

Zur Isolierung, Strukturaufklärung und Synthese gelber Russupteridine

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde
vorgelegt der
Philosophischen Fakultät II der Universität Zürich

von

HANA MÄRKI-DANZIG

von Zlaté Morávce (Tschechoslovakei)
sowie Schlieren (ZH) und Villigen (AG)

Begutachtet von Herrn Prof. Dr. Conrad Hans Eugster



Juris Druck + Verlag Zürich
1980



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Zur Isolierung, Strukturaufklärung und Synthese gelber Russupteridine

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde
vorgelegt der
Philosophischen Fakultät II der Universität Zürich

von

HANA MÄRKI-DANZIG

von Zlaté Moravce (Tschechoslovakei)
sowie Schlieren (ZH) und Villigen (AG)

Begutachtet von Herrn Prof. Dr. Conrad Hans Eugster



Juris Druck + Verlag Zürich
1980

Zur Färbung, Strukturformel
und Synthese gelber Pflanzengrünstoffe

VERGLEICHENDE STUDIEN
AN DER UNIVERSITÄT LEIDEN
VON
DR. J. H. VAN DER WERF
UND
DR. J. H. VAN DER WERF



ISBN 3 260 04827 9

Meinen lieben Eltern

in Dankbarkeit

Meinem verehrten Lehrer,

Herrn Prof. Dr. Conrad Hans Eugster

unter dessen Leitung die vorliegende Arbeit ausgeführt wurde,
danke ich herzlichst für sein stetes Interesse und seine wert-
volle Unterstützung.

INHALTSVERZEICHNIS	Seite
I. EINLEITUNG	11
II. BISHERIGE ARBEITEN AUF DEM GEBIET DER LUMAZINE	12
1. Isolierung und Strukturaufklärung von Russulafarbstoffen	12
2. Synthesen von N(8)-substituierten Lumazinen	20
III. EIGENE ARBEITEN	24
1. Isolierung von R. P. gelb _{IV} (14)	24
2. Charakterisierung von R. P. gelb _{IV} (14)	26
2.1. Eigenschaften	26
2.2. Analytische und spektroskopische Daten	27
3. Synthesen von Modellsubstanzen für R. P. gelb _{IV} (14)	32
4. Synthese von R. P. gelb _{IV} (14)	36
5. Partialsynthese von R. P. gelb _{IV} (14) aus R. P. gelb _I (5)	39
6. Synthesen von Modellsubstanzen für 6-Amino-7-oxo-8-D-ribityl-7,8-dihydrolumazin (6)	41
7. Synthese von 6-Amino-7-oxo-8-D-ribityl-7,8-dihydrolumazin (6)	53
8. Syntheserversuche zur Darstellung eines Tetraoxotriazepinderivates	59
IV. TABELLARISCHE ZUSAMMENSTELLUNG VON DATEN DER ISOLIERTEN RESP. SYNTHETISIERTEN RUSSUP-TERIDINE ODER DEREN ABBAUPRODUKTE	69
V. UEBERLEGUNGEN ZUR BIOGENESE DER NEUEN VERBINDUNGEN	76

VI.	VERDANKUNGEN	81
VII.	EXPERIMENTELLER TEIL	82
1.	Allgemeines	82
2.	Isolierung von R. P. gelb _{IV} (14)	84
3.	Charakterisierung des isolierten R. P. gelb _{IV} (14)	85
4.	Synthesen von Modells-substanzen für R. P. gelb _{IV} (14)	86
4.1.	Verbindung <u>16</u> bzw. <u>16'</u> durch Kondensation von o-Phenylendiamin mit Parabansäure (15) in Eisessig	86
4.2.	Verbindungen <u>17</u> und <u>18</u> durch Kondensation von o-Phenylendiamin mit Parabansäure (15) in Glykol	87
4.3.	Kondensation von 5-Amino-4-methylaminouracil (19) mit Parabansäure (15) in Glykol	89
5.	Synthese von R. P. gelb _{IV} (14)	90
6.	Partialsynthese von R. P. gelb _{IV} (14) aus R. P. gelb _I (5)	93
6.1.	Oxidation mit Tollens-Reagenz	93
6.2.	Oxidation mit Ag ₂ O in NaOH	93
7.	Synthesen von Modells-substanzen für 6-Amino-7-oxo-8-D-ribityl-7,8-dihydrolumazin (6)	94
7.1.	8-Methyllumazin (24)	94
7.1.1.	Nitrierung resp. Nitrosierung von 8-Methyllumazin (24)	94
7.1.2.	Bromierung von 8-Methyllumazin (24)	95
7.2.	8-Methyl-7-oxo-7,8-dihydrolumazin (27)	95
7.2.1.	Bromierung von 8-Methyl-7-oxo-7,8-dihydrolumazin (27)	96
7.2.2.	Methylierung von 6-Brom-8-methyl-7-oxo-7,8-dihydrolumazin (25) mit Diazomethan	97
7.2.3.	Kupplung von 8-Methyl-7-oxo-7,8-dihydrolumazin (27) mit Phenyldiazoniumchlorid (32)	98

7.2.4.	Kupplung von 8-Methyl-7-oxo-7,8-dihydrolumazin (<u>27</u>) mit p-Nitrophenyldiazoniumchlorid (<u>33</u>)	99
7.2.5.	Reduktion der Azoverbindung <u>34</u> zu 6-Amino-8-methyl-7-oxo-7,8-dihydrolumazin (<u>36</u>)	101
7.2.6.	Hydrolyse von 6-Amino-8-methyl-7-oxo-7,8-dihydrolumazin (<u>36</u>) zu 6,7-Dioxo-8-methyl-5,6,7,8-tetrahydrolumazin (<u>38</u>)	102
8.	Synthese von 6-Amino-7-oxo-8-D-ribityl-7,8-dihydrolumazin (<u>6</u>)	102
8.1.	7-Oxo-8-D-ribityl-7,8-dihydrolumazin (<u>2</u>) (Desmethyl-V-Compound)	102
8.1.1.	Kupplung von Desmethyl-V-Compound (<u>2</u>) mit p-Nitrophenyldiazoniumchlorid (<u>33</u>)	103
8.1.2.	Reduktion der Azoverbindung <u>35</u> zu 6-Amino-7-oxo-8-D-ribityl-7,8-dihydrolumazin (<u>6</u>)	105
8.1.3.	Hydrolyse von 6-Amino-7-oxo-8-D-ribityl-7,8-dihydrolumazin (<u>6</u>) zu 6,7-Dioxo-8-D-ribityl-5,6,7,8-tetrahydrolumazin (<u>4</u>)	106
9.	Versuch einer Synthese von 2,4,5,7-Tetraoxotriazepin (<u>40</u>)	106
9.1.	Ausgangsmaterial: Biuret (<u>41</u>)	106
9.2.	Ausgangsmaterial: 4-Phenylurazol (<u>42</u>)	107
9.2.1.	N-N-Spaltung mit Raney-Ni in Aethanol und anschliessen der Kondensation mit Oxalylchlorid	107
9.2.2.	N-N-Spaltung mit Raney-Ni in C_2H_5OH/CF_3COOH und anschliessende Kondensation mit Oxalylchlorid	108
9.3.	[2+2] Cycloaddition von Tetramethoxyäthylen (<u>47</u>) und 4-Phenyl-1,2,4-triazolin-3,5-dion (<u>48</u>) mit anschliessen der N-N-Spaltung	109
9.4.	Reaktion von Dibenzylloxalamid (<u>51</u>) mit PCl_5	110

VIII. LITERATURVERZEICHNIS

113

I. EINLEITUNG

Die vorliegende Arbeit befasst sich in ihrem ersten Teil mit der Isolierung gelber, im UV.-Licht fluoreszierender Farbstoffe aus Täublingen und ihrer Strukturaufklärung. Im zweiten Teil beschäftigt sie sich mit Total- und Partialsynthesen von in ihrer Struktur bereits aufgeklärten oder nur postulierten natürlichen Pilzfarbstoffen resp. deren Abbauprodukten.

Die Gattung *Russula* (Täublinge), Familie Russulaceae, Ordnung Agaricales, Klasse Basidiomycetes kommt in Europa und Nordafrika sehr zahlreich vor [1]. Es handelt sich um Hutpilze mit einem Reichtum an verschiedenen Färbungen. Vor allem die Huthaut enthält je nach Art ein breites Spektrum an Farbstoffen, die von gelb über orange, rot, violett, blau, grün bis grauschwarz reichen. Ferner weisen die meisten *Russula*-Arten im Fruchtfleisch farblose, im UV.-Licht intensiv violett oder blau fluoreszierende Verbindungen auf. Bisherige Untersuchungen haben gezeigt, dass es sich vorwiegend um Pteridin-derivate handelt [2]; demzufolge werden diese Stoffe als Russupteridine (= R.P.) bezeichnet. Diejenigen, die bis heute isoliert und in ihrer Struktur aufgeklärt worden sind, weisen sogar ausschliesslich ein Lumazingrundgerüst auf [2, 3, 4, 5]. Durch Isolierung und Strukturaufklärung möglichst zahlreicher Russupteridine wird eine umfangreiche Kenntnis über die biogenetischen Zusammenhänge angestrebt.

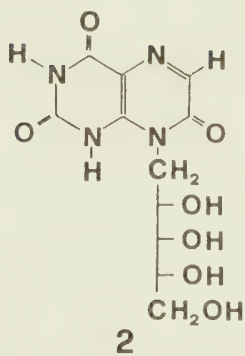
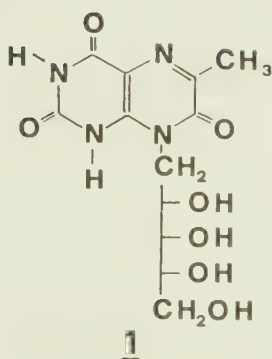
Mit der vorliegenden Dissertation konnte zum ersten Mal gezeigt werden, dass in der Natur 6,7-Diaminolumazinderivate vorkommen. Aus einigen *Russula*-arten konnten solche Verbindungen isoliert und in ihrer Struktur aufgeklärt werden. Diese Erkenntnis scheint uns von grosser Bedeutung zu sein, da sich somit neben der eingehend untersuchten Riboflavinbiogenese [6] andere Pteridinbiogenesewege anbieten.

II. BISHERIGE ARBEITEN AUF DEM GEBIET DER LUMAZINE.

1. Isolierung und Strukturaufklärung von Russulafarbstoffen.

Mit der Isolierung und Strukturaufklärung von Russulafarbstoffen beschäftigten sich ausser unserer Arbeitsgruppe [2-5, 7] in neuerer Zeit einige Autoren [1, 8-11]. Andere, vorwiegend ältere Arbeiten beschränkten sich auf qualitative, meist chromatographische Untersuchungen [12-14]. Sie haben wertvolle Hinweise auf verbesserte Isolierungsmethoden geliefert. Charakteristisch für viele Russulafarbstoffe ist die Tatsache, dass im Anschluss an die relativ einfach durchführbare Extraktion die chromatographische Auftrennung der oft zahlreichen Komponenten grosse Mühe bereitet. Als beste Trennmethode erwies sich mehrmalige Chromatographie an Cellulose- resp. Sephadexsäulefüllmaterialien; sie kann wegen der recht guten Wasserlöslichkeit von praktisch allen betreffenden Verbindungen mit Wasser, verdünnter Essigsäure oder verdünnter Pyridinlösung durchgeführt werden.

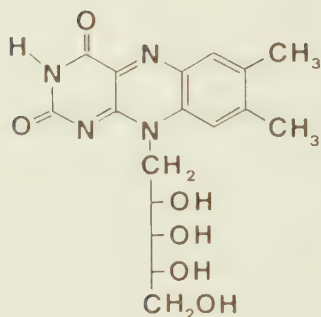
Bei den bis heute am häufigsten untersuchten Russulaarten handelt es sich um R. emetica, R. sardonias, R. paludosa, R. obscura und R. badia. Von den zahlreichen, sich im Fruchtfleisch befindlichen, farblosen, blau- und violettfluoreszierenden Verbindungen konnten zwei Vertreter isoliert und in ihrer Struktur aufgeklärt werden. Es handelt sich um 6-Methyl-7-oxo-8-D-ribityl-7,8-dihydro-lumazin (1, sog. V-Compound) und 7-Oxo-8-D-ribityl-7,8-dihydro-lumazin (2, sog. Desmethyl-V-Compound). Beide sind neu für höhere Pilze (Basidiomyceten), sie wurden jedoch in Eremothecium ashbyi sowie in Pseudomonas ovalis (Ascomyceten) nachgewiesen, isoliert und identifiziert [15, 16, 17].



Von den gelben Russulafarbstoffen wurden in zahlreichen Russulaarten papier- und dünnschicht-chromatographisch 7 verschiedene gelbe Verbindungen nachgewiesen [8,14]. In der Arbeitsgruppe von Prof. Eugster konnten bis heute 5 Vertreter isoliert werden. Sie werden mit R.P.gelb_I, R.P.gelb_{II}, R.P.gelb_{III}, R.P.gelb_{IV} und R.P.gelb_V bezeichnet.

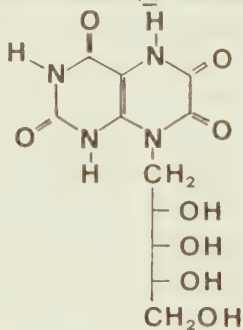
Bei R.P.gelb_{III} handelt es sich um Riboflavin (3) [4]. Dies ist nicht unerwartet, da die oben erwähnten Ascomyceten, in denen V-Compound (1) und Desmethyl-V-Compound (2) nachgewiesen wurden, zu den bekanntesten Riboflavinproduzenten zählen. Somit können 1 und 2 als Nebenprodukte bei der Riboflavinbiogenese angesehen werden. Von den übrigen 4 gelben Russupteridinen konnten weitere 2 strukturell aufgeklärt werden.

R.P.gelb_I wurde zuerst von Frauenfelder [3] isoliert, seine Reindarstellung durch Umkristallisation gelang jedoch erst Koch [4]. Umfangreiche Arbeiten zur Strukturaufklärung wurden von Iten [2,18] ausgeführt. R.P.gelb_I erwies sich in wässrigen Lösungen als recht labil. Die UV.-Spektren zeigen eine für bis heute bekannte Lumazine atypische sehr geringe pH-Abhängigkeit ([2] und Tabelle in Abschnitt IV.).



3

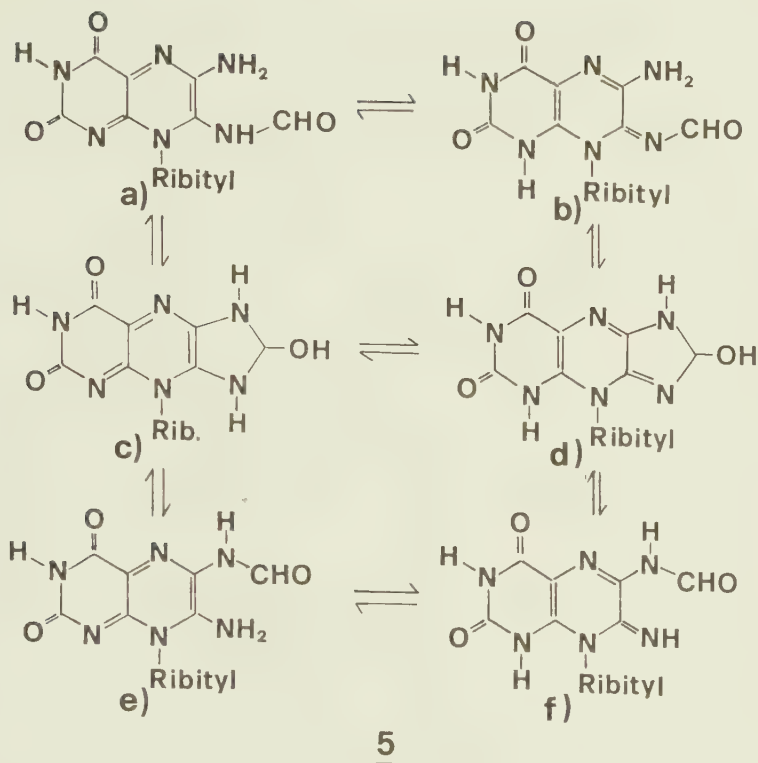
Der Kurvenverlauf in allen drei pH-Bereichen ist jedoch für einen Lumazinchromophor charakteristisch. Die Anwesenheit einer am N(8) an-kondensierten D-Ribitylseitenkette konnte sowohl durch CD. -, ^1H -NMR. - und ^{13}C -NMR. -Spektren, als auch durch Hydrolyse bei 150° (Bomben-rohr) in 2proz. Essigsäure zu dem schon bekannten 6,7-Dioxo-8-D-ribityl-5, 6, 7, 8-tetrahydrolumazin (4) bestätigt werden.



4

Ferner weisen die beiden NMR. -Spektren auf eine zum Lumazingerüst zusätzliche Formylgruppe hin, die bei einer sorgfältig ausgeführten Hydrolyse in Form von Ameisensäure nachgewiesen werden konnte. Die zwar etwas ungenaue Elementaranalyse deutet auf die Anwesenheit von 6 N-Atomen hin.

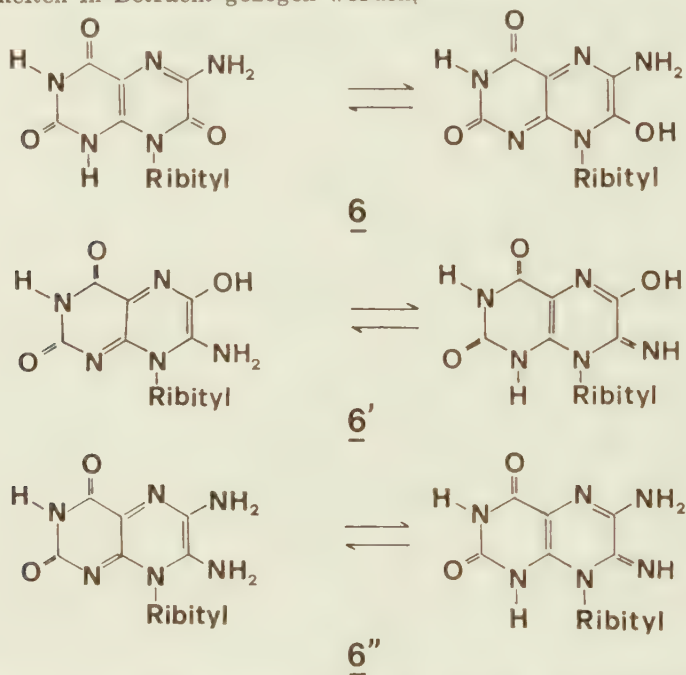
Anhand dieser Daten konnte Iten folgenden Strukturvorschlag für R.P. gelb_I aufstellen:



Da im ^1H -NMR.-Spektrum keine primäre Aminogruppe beobachtet werden konnte, muss angenommen werden, dass R.P.gelb_I in DMSO vorwiegend in der Imidazolinform (5c und 5d) vorliegt. Diese Annahme konnte durch die später beschriebene Partialsynthese von R.P.gelb_{IV} aus R.P.gelb_I bestätigt werden (Abschnitt III. 5.).

Wird bei R.P.gelb_I anstatt einer Hydrolyse bei 150° (Bombenrohr) eine mildere Hydrolyse bei 100° (Normaldruck) in 0,1N HCl oder 0,1N NaOH durchgeführt, so kann ein neues Zwischenprodukt isoliert werden, das seinerseits durch nachfolgende Bombenrohrhydrolyse zu dem bekannten 6,7-Dioxo-8-D-ribityl-5,6,7,8-tetrahydrolumazin (4) hydrolysiert werden konnte. Die UV.-Spektren sind vom Typus der

Dioxyverbindung 4 mit jeweils einer bathochromen Verschiebung von ca. 10 nm [2]. Für das vorliegende Abbauprodukt mussten drei Strukturmöglichkeiten in Betracht gezogen werden:



Da das ^1H -NMR.-Spektrum nur von einem Gemisch aufgenommen werden konnte [19], ist es nicht möglich mit Sicherheit zu entscheiden, wieviele Aminogruppen vorliegen. Lediglich die Anwesenheit von mindestens einer Aminogruppe kann bestätigt werden. Die beiden Strukturen 6' und 6'' können jedoch anhand folgender zwei Argumente ausgeschlossen werden.

Einerseits muss angenommen werden, dass das C(7)-Atom sehr elektrophil ist. Bei einer Hydrolyse in wässriger Säure resp. Base müsste sowohl die Amino- wie auch die Iminogruppe leicht durch eine Hydroxylgruppe substituierbar sein. Demzufolge dürften die Verbindungen 6' und 6'' unter solchen Hydrolysebedingungen nicht beständig sein. Das iso-

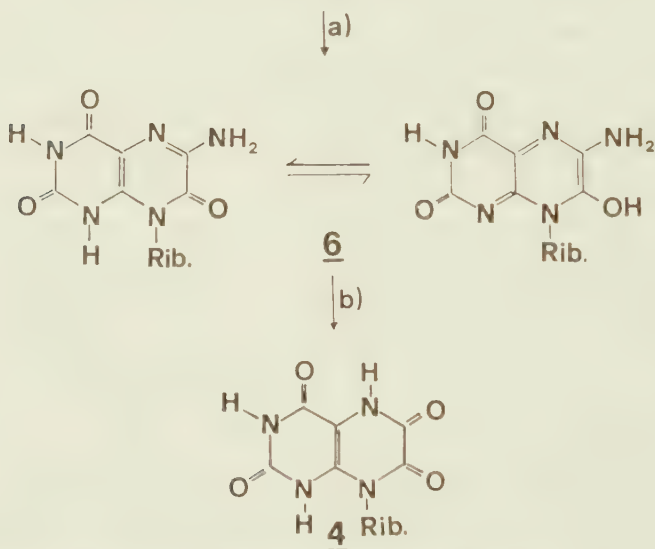
lierte Zwischenprodukt erwies sich jedoch als recht stabil; lediglich eine Hydrolyse bei 150° (Bombenrohr) führt zu dem erwarteten Dioxolumazin 4. Hydrolyseversuche sowohl in 0,1N HCl wie auch in 0,1N NaOH bei 100° (Normaldruck) führten zu einer recht langsamen Substitution der Aminogruppe.

Andererseits nehmen wir an, dass die UV.-Spektren der beiden Verbindungen 6' und 6'' gegenüber dem Dioxolumazin 4 stärkere bathochrome Verschiebung aufweisen sollten. Diese Annahme stützt sich auf das vorliegende doppelte para-aza-chinoide System, welches möglicherweise ein besseres Donator-Akzeptor-Paar darstellt, als es für die entsprechende Verbindung 6 zutrifft. Diese Vermutung kann durch Literaturvergleich praktisch nicht bestätigt werden, da ähnliche 6- resp. 7-Aminolumazine mit einem N(8)-Substituenten noch nicht bekannt sind. Ein Vergleich mit anderen para-aza-chinoiden Systemen, die kein Lumazingerüst aufweisen, würde zu Fehlergebnissen führen, da die Lumazine sehr typische elektronische Strukturen aufweisen. Vergleicht man die heute bekannten synthetisierten N(8) unsubstituierten 6- resp. 7-Aminolumazine oder die entsprechenden Pteridine [20a-d], führt dies ebenfalls zu Verfälschungen, da hier wiederum ganz andere elektronische Verhältnisse vorliegen. Die einzigen Substanzen mit einer 6,7-Diamino-8-D-ribitylstruktur, die uns zu Verfügung stehen, sind R.P.gelb_I und R.P.gelb_{IV}. Bei beiden können wir einen starken bathochromen Effekt gegenüber dem Dioxolumazin 4 beobachten, der jedoch durch die an den jeweiligen Aminogruppen ankondensierten Carboxylgruppen sicher verstärkt ist (Abschnitt IV.).

Aufgrund dieser Ueberlegungen wurde für das erste Abbauprodukt von R.P.gelb_I (5) die Struktur 6 postuliert. Die definitive Bestätigung für diese Annahme lieferte die später beschriebene Synthese von 6-Amino-7-oxo-8-D-ribityl-7,8-dihydrolumazin (6), deren analytische und spektroskopische Daten mit denjenigen des 1. Hydrolyseproduktes von R.P.gelb_I (5) vollkommen übereinstimmen. Somit gelang es uns, neben der Struk-

turaufklärung eines Abbaustoffes aus einem Naturstoff auch wichtige Hinweise auf die Reaktivität der Zentren C(6) und C(7) bei Lumazinderivaten zu erhalten. Die postulierte starke Elektrophilie des C(7)-Atomes kann durch die leichte Hydrolyse von R.P.gelb_I (5) zu 6-Amino-7-oxo-8-D-ribityllumazin (6) bestätigt werden. Eine Bestätigung der relativ geringen Elektrophilie am C(6)-Atom finden wir in der recht grossen Hydrolysestabilität der Verbindung 6 (Schema 1).

R.P.gelb_I(5)



a) 0,1N HCl oder 0,1N NaOH; $T \leq 100^{\circ}$ (Normaldruck)

b) 2proz. HAc; $T = 150^{\circ}$ (Bombenrohr)

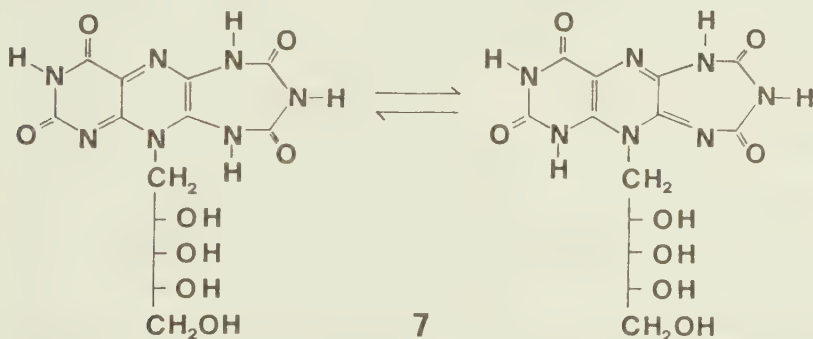
Schema 1: Hydrolyse von R.P.gelb_I (5).

R.P.gelb_{II} wurde parallel zu R.P.gelb_I zum ersten Mal von Frauenfelder [3] isoliert. Die Reindarstellung und die nachfolgenden spektroskopischen Untersuchungen wurden von Iten [2,18,19] ausgeführt. Wie schon R.P.gelb_I erwies sich auch R.P.gelb_{II} in wässrigen Lösungen als recht labil. Durch Hydrolyse bei 150° (Bombenrohr) in 2proz. Es-

sigsäure lässt es sich ebenfalls in die Dioxoverbindung 4 überführen. Im Gegensatz zu R.P.gelb_I gelang es nicht, unter milderen Hydrolysebedingungen ein Zwischenprodukt zu isolieren.

Die UV.-Spektren weisen einen typischen Lumazinchromophor auf. Die langwelligen Banden sind vor allem bei pH 7 und 13 gegenüber den bisher bekannten monomeren Verbindungen stark bathochrom verschoben. Ferner wird eine starke pH-Abhängigkeit beobachtet (Abschnitt IV.). Das ¹³C-NMR.-Spektrum weist neben dem Lumazingrundgerüst mit einer Ribitylseitenkette zwei weitere C-Atome im Carbonylbereich auf.

Anhand der vorliegenden spektroskopischen Daten konnten wir für R.P.gelb_{II} folgenden Strukturvorschlag aufstellen:



Die Richtigkeit einer solchen Struktur kann nur durch eine Totalsynthese bewiesen werden. In der vorliegenden Arbeit wurden einige Ansätze dazu gemacht, wobei das Hauptgewicht auf der Synthese eines Tetraoxotriazepinderivates liegt.

Auf die Isolierung, Strukturaufklärung und Totalsynthese von R.P.gelb_{IV} wird in der vorliegenden Dissertation detailliert eingegangen.

In Russula ochroleuca wurde in letzter Zeit ein neuer gelber Farbstoff entdeckt, den wir als R.P.gelb_V bezeichnen. Bis jetzt konnte lediglich eine Trennmethode zu seiner Reinigung ausgearbeitet werden. Demzufolge liegen bisher ausser DC.-, CD.- und UV.-Daten keine weiteren

spektroskopischen resp. chemischen Untersuchungen vor. Die UV.-Spektren weisen analog zu R.P.gelb_I (5) praktisch keine pH-Abhängigkeit auf, die langwelligen Banden sind jedoch um 30 bis 40 nm bathochrom verschoben (Abschnitt IV.).

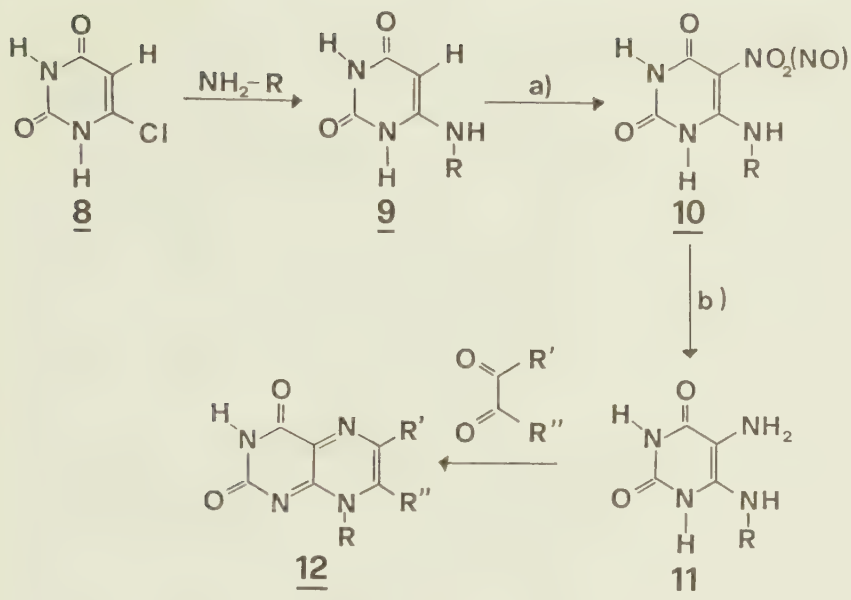
Von den roten Russula-Farbstoffen konnten 5 Vertreter chromatographisch nachgewiesen werden. Die Hauptkomponente R.P.-S_{III} wurde bis jetzt von Iten [5] und Venakis [7] eingehend untersucht. Nach den bisherigen Erkenntnissen handelt es sich hier um dimere Pterinderivate; ihre Strukturaufklärung hat sich wegen der im Vergleich zu monomeren Derivaten komplizierten Struktur als sehr schwierig erwiesen. Mit Sicherheit kann man sagen, dass hier ein dimeres Pteridinribosid mit einer β -D-Ribofuranosylkonfiguration vorliegt [7]. Bei allen bis jetzt isolierten monomeren Pteridinderivaten wurde ausschliesslich eine offenkettige Ribitylseitenkette vorgefunden.

2. Synthesen von N(8)-substituierten Lumazinen.

Die synthetischen Arbeiten auf dem Pteridingebiet sind sehr umfangreich. Ihre Zusammenstellung würde den Rahmen der vorliegenden Dissertation sprengen. Da alle bis jetzt aus Täublingen isolierten und in ihrer Struktur aufgeklärten Farbstoffe N(8)-substituierte Lumazinderivate sind, möchte ich mich hier auf die Diskussion solcher Verbindungen beschränken.

Umfangreiche Arbeiten wurden von Pfeleiderer [21-24] und anderen Autoren [25-30] ausgeführt. Praktisch ausnahmslos handelt es sich dabei um die Synthesen von 6- und/oder 7-Oxo, aryl oder alkylsubstituierten Verbindungen mit verschiedenen Alkyl- oder Hydroxyalkylresten am N(8).

Die am häufigsten verwendeten Synthesewege sind in den Schemata 2 und 3 zusammengestellt.



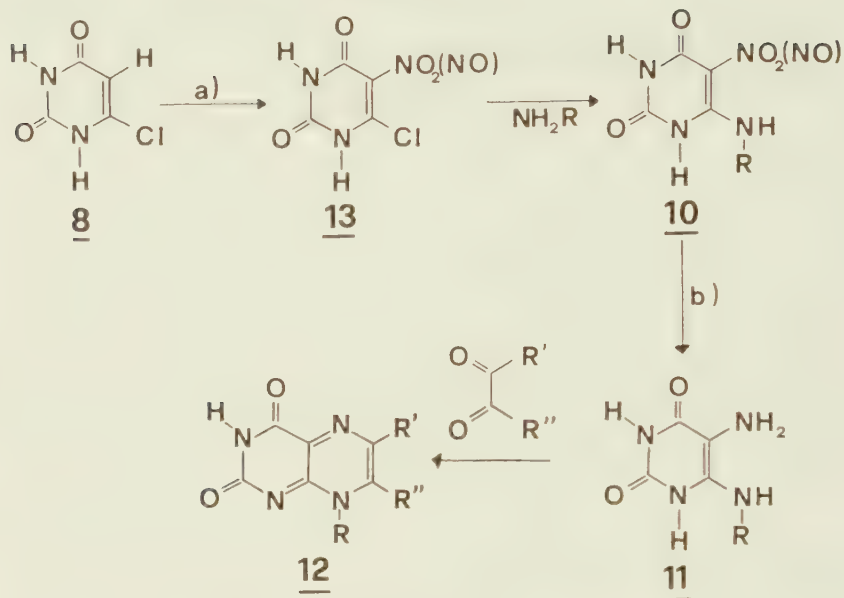
a) Nitrierung resp. Nitrosierung

b) Reduktion

Schema 2: Allgemeiner Syntheseweg für 6,7,8-trisubstituierte Lumazine.

Als Ausgangsmaterial für 4-Chlor-uracil (8) wird meistens 2,4,6-Tri-chlorpyrimidin verwendet. Die nächste Stufe beinhaltet entweder Chlor-Substitution zum 4-Amino-uracil 9 (Schema 2), oder Nitrierung resp. Nitrosierung zu 5-Nitro(Nitroso)-4-chlor-uracil (13) (Schema 3). Anschliessend wird im 1. Fall das 4-Amino-uracil 9 nitriert resp. nitro-siert, im 2. dagegen das 5-Nitro(Nitroso)-4-chlor-uracil (13) mit einem primären Amin versetzt. Nach beiden Synthesewegen entsteht 4-Amino-5-nitro(nitroso)-uracil (10), bei dem anschliessend die Nitro-(Nitroso)-Gruppe zur Aminogruppe reduziert wird. Darauf erfolgt die Kondensation des so gebildeten 4,5-Diaminouracils 11 mit der jeweiligen 1,2-Dicarbonylkomponente. Falls es sich um eine asymmetri-sche Dicarbonylverbindung handelt, reagiert zuerst die primäre, basi-sche 5-Aminogruppe mit dem reaktiveren Carbonyl, gefolgt von der

sekundären, vinilogen Amid-Funktion.



a) Nitrierung resp. Nitrosierung

b) Reduktion

Schema 3: Allgemeiner Syntheseweg für 6,7,8-trisubstituierte Lumazine.

Solche Synthesemethoden für Pteridine sind schon seit 1906 bekannt [31]. Vereinzelt gibt es zu den beiden Schemata ein paar Varianten in der Einführung des N-Atomes am C(5) beim Uracil [32,33]; doch für alle wurde das leicht zugängliche Trichlorpyrimidin als Ausgangsmaterial verwendet. Bis heute hat sich also bestätigt, dass es recht vorteilhaft ist, das Pteridingerüst aus Pyrimidinderivaten aufzubauen. Einige Autoren versuchten, solche Synthesen vom Pyrazinring ausgehend durchzuführen [34-36]. Dies erwies sich jedoch als sehr aufwendig und praktisch nur für an N(8) unsubstituierten Pteridinen anwendbar. Eine recht vorteilhafte Variante bietet eine der zahlreichen Riboflavinsynthesen [32]. Zwar wird hier als Ausgangsmaterial wiederum Trichlor-

pyrimidin resp. 5-Amino-4-chloruracil eingesetzt, doch die Ribitylaminogruppe wird zusammen mit dem sehr stabilen Dimethylbenzol-Kondensationspartner eingeführt. Diese Methode konnte jedoch bis heute auf keine anderen Pteridine übertragen werden.

Bei unseren Synthesen wählten wir den im Schema 3 aufgezeichneten Weg. Dabei hat es sich bewährt, die Ribitylaminogruppe möglichst spät, d.h. kurz vor der Kondensation mit der Dicarboxylkomponente einzuführen. Ferner bevorzugten wir die Nitrierung gegenüber der Nitrosierung, da sie die besseren Ausbeuten lieferte.

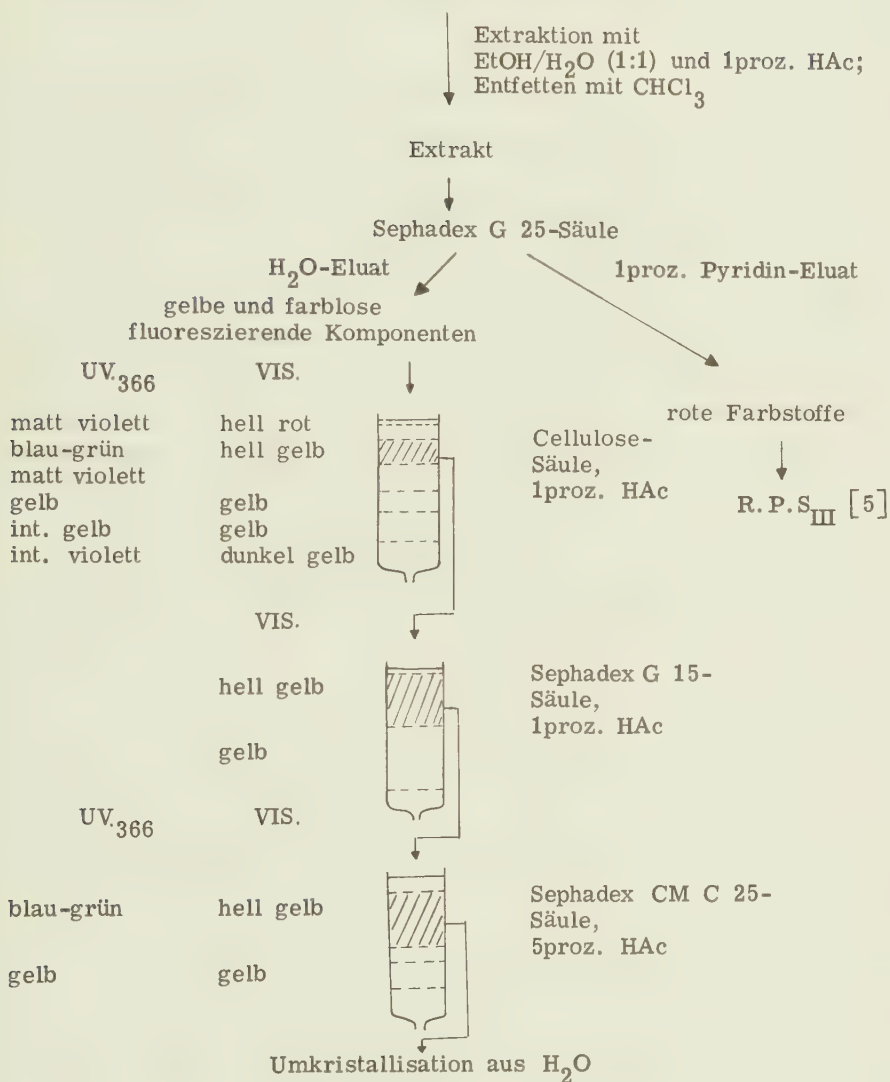
Unser Hauptproblem bestand darin, die Kondensation, die bereits für eine ganze Reihe reaktiver Carbonylverbindungen beschrieben worden ist, auf recht unreaktive Amidderivate zu übertragen.

III. EIGENE ARBEITEN

1. Isolierung von R.P.gelb_{IV} (14).

Der nach [37] erhaltene Extrakt aus 300 kg Russula sardonia (Ernte 1969) wurde zuerst an mehreren Sephadex G 25-Säulen chromatographiert, dabei konnten die roten Farbstoffe von den gelben und farblosen im UV-Licht blau- und violett-fluoreszierenden Stoffen abgetrennt werden. Die gesamten, mit Wasser eluierten Fraktionen wurden am LUWA-Dünnschichtverdampfer im Vakuum eingeeengt. Im Dünnschichtchromatogramm konnte neben Riboflavin (3), R.P.gelb_I (5), R.P.gelb_{II} (7), V-Compound (1) und Desmethyl-V-Compound (2) eine neue blau-grün fluoreszierende Verbindung beobachtet werden. Sie wurde mit R.P.gelb_{IV} bezeichnet. Ihre weitere Isolierung erfolgte (Schema 4) zunächst an einer Cellulosesäule mit 1proz. Essigsäure als Elutionsmittel. Nach dieser Vortrennung wurde eine weitere Chromatographie an Sephadex G 15 mit 1proz. Essigsäure durchgeführt, dabei konnte fast reines R.P.gelb_{IV} erhalten werden. Trotz der beachtlichen Reinheit erwies sich eine weitere chromatographische Reinigung am Kationenaustauscher Sephadex CM C 25 mit 5proz. Essigsäure als Eluierungsmittel als vorteilhaft. Das so erhaltene R.P.gelb_{IV} wurde aus Wasser umkristallisiert. Die Kristalle wurden im Vakuum bei 0,01 Torr und 45⁰ über P₂O₅ getrocknet. Die Ausbeute betrug insgesamt 25 mg.

300 kg Russula sardonia



Schema 4: Chromatographische Isolierung von R. P. gelb_{IV} (14).

2. Charakterisierung von R. P. gelb_{IV} (14).

2.1. Eigenschaften.

R. P. gelb_{IV} ist ein amorphes, mattgelbes Pulver. Die Substanz ist nicht flüchtig und zeigt einen Schmelzpunkt von $> 300^{\circ}$. Bei Raumtemperatur ist sie im Wasser gut löslich, etwas weniger gut in DMSO, nur schwach in Methanol und unlöslich in allen üblichen organischen Lösungsmitteln. Wässrige Lösungen sind schwach gelb; sie weisen schon am Tageslicht blau-grünliche Fluoreszenz auf. Im UV-Licht fluoreszieren sie intensiv blau-grün, vor allem in neutralem und basischem Milieu, saure Lösungen weisen eine gelbstichig blaue Fluoreszenz auf.

Im Gegensatz zu den meisten bis heute isolierten Lumazinen erwies sich R. P. gelb_{IV} als lichtbeständig. Sowohl am Tageslicht, als auch bei Bestrahlung mit einer 60-Watt-Wolfram-Lampe konnte nach mehreren Tagen in 0,1N HCl und in 0,1N NaOH neben 2 Abbauprodukten (Rf-Werte: 0,00 und 0,05) praktisch unverändertes R. P. gelb_{IV} nachgewiesen werden.

In Analogie zu der Lichtbeständigkeit wurde auch die Wärmebeständigkeit untersucht. Ein zweistündiges Erwärmen einer 0,1N NaOH-Lösung auf 80° lieferte unverändertes R. P. gelb_{IV}. Saure Hydrolyseversuche sowohl in 0,1N HCl bei 80° , als auch in 2proz. Essigsäure bei 150° (Bombenrohr) wiesen nach 2-3 Std. neben den gleichen beiden Abbauprodukten, die schon bei den Bestrahlungsexperimenten auftraten, nur unverändertes R. P. gelb_{IV} auf.

Ausgehend von natürlich vorkommenden Lumazinen war es in fast allen Fällen möglich, durch Hydrolyse zu bekannten Produkten z.B. zur Dioxoverbindung 4 zu gelangen. Zur Strukturaufklärung war dies ein sehr wichtiger Hinweis. Im Fall von R. P. gelb_{IV} (14) konnten wir kein Abbauprodukt identifizieren. Man kann daraus folgern, dass es

sich hier um eine ungewöhnlich stabile Verbindung handelt, deren "Seitenkette" sehr hydrolysebeständig ist.

2.2. Analytische und spektroskopische Daten.

Wegen der sehr kleinen Substanzmenge von R.P.gelb_{IV} konnte nur eine Ultramikroanalyse ausgeführt werden. Ihre Werte betragen:
C 37,3 H 4,38 N 20,9% (7,5% Rückstand berücksichtigt).

Dieses Resultat weist auf 6-N-Atome hin.

Die isoelektrische Fokussierung in einem pH-Saccharose-Gradienten (Ampholin pH 3,5-10,0) zeigte eine scharf fokussierte, blau fluoreszierende Zone, für die ein $pI=1,8$ bestimmt wurde. Bei R.P.gelb_{IV} muss es sich also um eine sehr saure Verbindung handeln. Dieser Befund wurde mit einer pK_s -Bestimmung bestätigt. Der einzige isosbestische Uebergang ergibt ein $pK_s=2,97$ (Figur 1).

Die Elektronenspektren von R.P.gelb_{IV} in allen 3 pH-Bereichen zeigen einen für ein Lumazin charakteristischen Verlauf (Figur 2).

Das CD.-Spektrum zeigt zunächst, dass es sich hier um eine optisch aktive Verbindung handelt (Figur 3). Dies kann ein Hinweis auf eine D-Ribitylgruppe sein.

Das IR.-Spektrum weist keine grossen Abweichungen gegenüber den bekannten Lumazinen auf (Figur 4).

Im 1H -NMR.-Spektrum (Figur 5) finden wir zwischen 3,0 und 4,7ppm drei komplexe Multipletts, die den 7 Methylen- und Methinprotonen einer N-D-Ribitylgruppe zugeordnet werden können. Bei 11,4ppm befindet sich ein mit D_2O austauschbares Signal, dem zwei N-H-Protonen angehören.

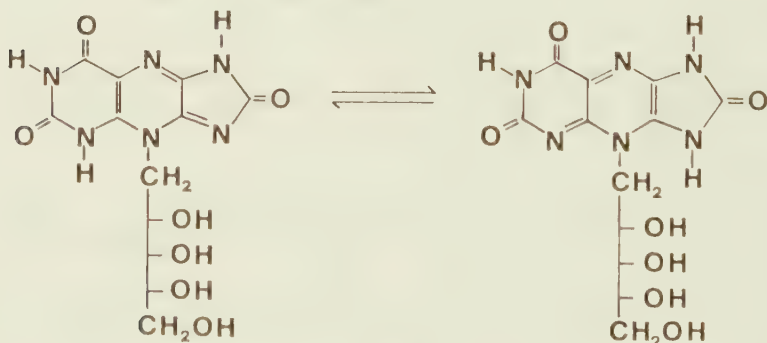
Das ^{13}C -NMR.-Spektrum (Figur 6) zeigt zunächst deutlich getrennt die

5-C-Atome der Ribitylgruppe. Darüber hinaus können in den für ein Lumazingerüst typischen Bereichen weitere 7-C-Atome beobachtet werden; davon können nur 6-C-Atome vom Gerüst selbst stammen, das 7. C-Atom muss sich in der "Seitenkette" befinden.

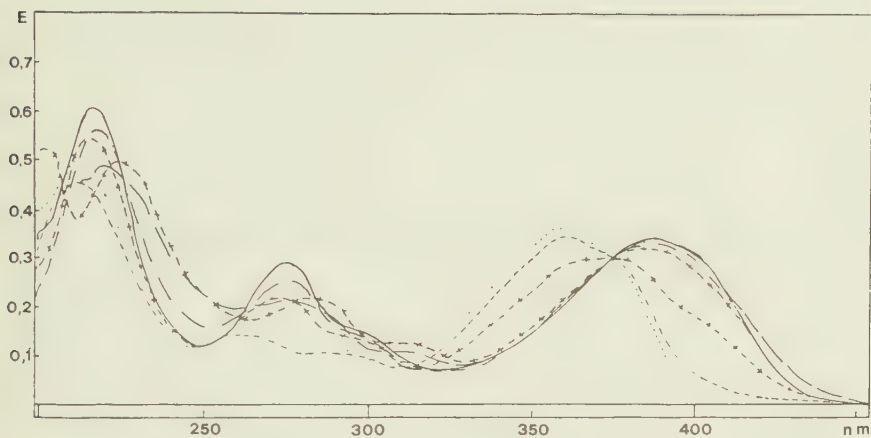
Das Massenspektrum vom underivatisierten R. P. gelb_{IV} lieferte etwas unsichere Werte. Erst das Spektrum der polysilylierten Verbindung wies klar darauf hin, dass es sich hier um ein Heptasilyläther mit einem Molekulargewicht von 859 handeln muss.

Das Felddesorptionsspektrum von R. P. gelb_{IV} zeigt ein Molekularpeak von 355, was zunächst mit dem Massenspektrum der silylierten Verbindung nicht übereinstimmte. Jedoch ist nach [38] für Zuckerderivate das Auftreten eines M+1-Peaks typisch; somit liegt hier also kein Widerspruch vor.

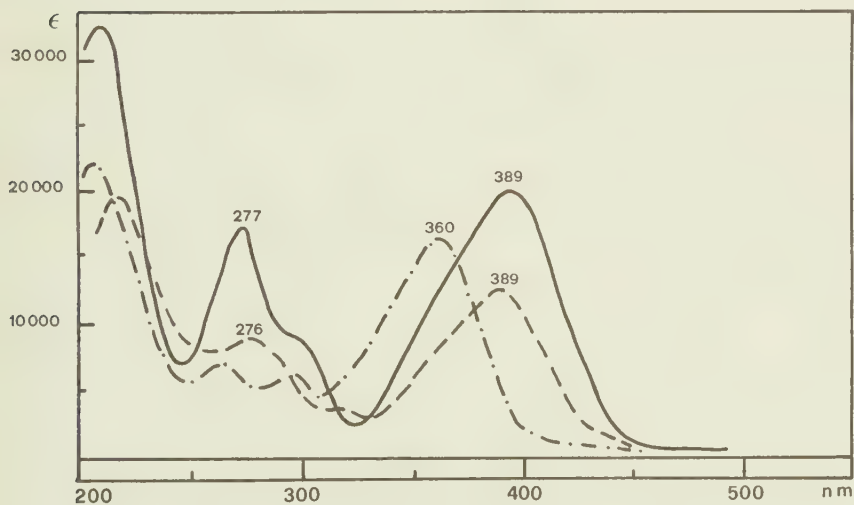
Anhand der bis jetzt besprochenen Daten kann für R. P. gelb_{IV} folgender Strukturvorschlag aufgestellt werden; es handelt sich um 4-(D-Ribityl)-imidazolo[4, 5-g]-pteridin-2, 6, 8(1H, 4H, 5H, 7H)-trion (14).



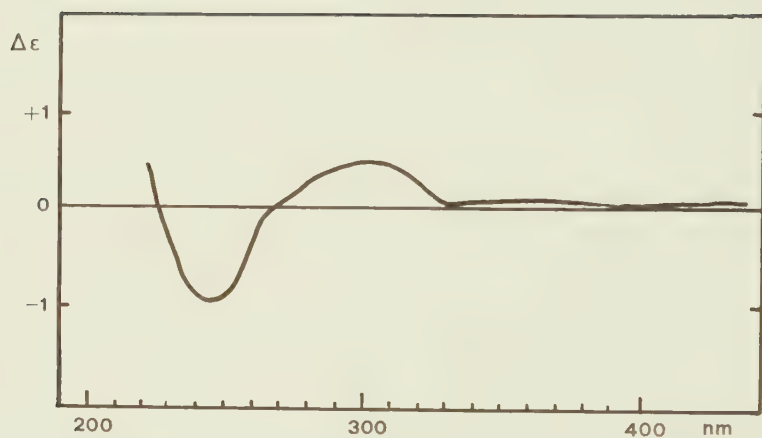
14



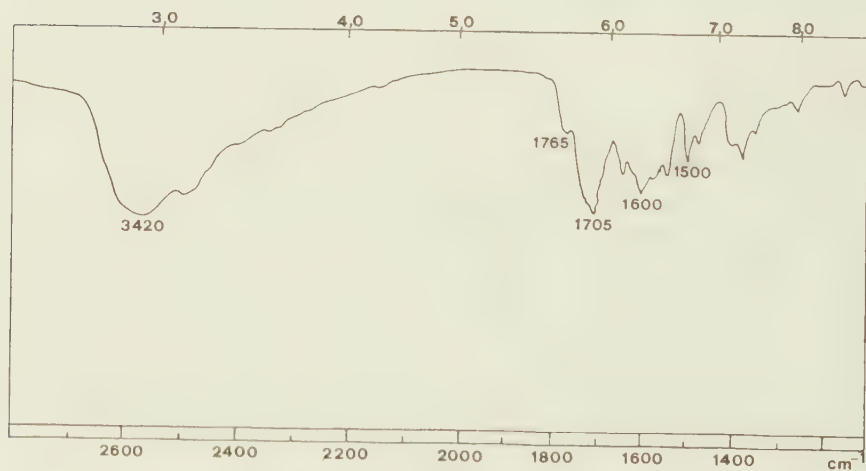
Figur 1: pH-abhängiges Elektronenspektrum von isoliertem R. P. gelb_{IV} (14);
 ----- pH=0; pH=1; -.-.-.- pH=3; ——— pH=5;
 - - - - - pH=10; - - - - - pH=12; — · — pH=13.



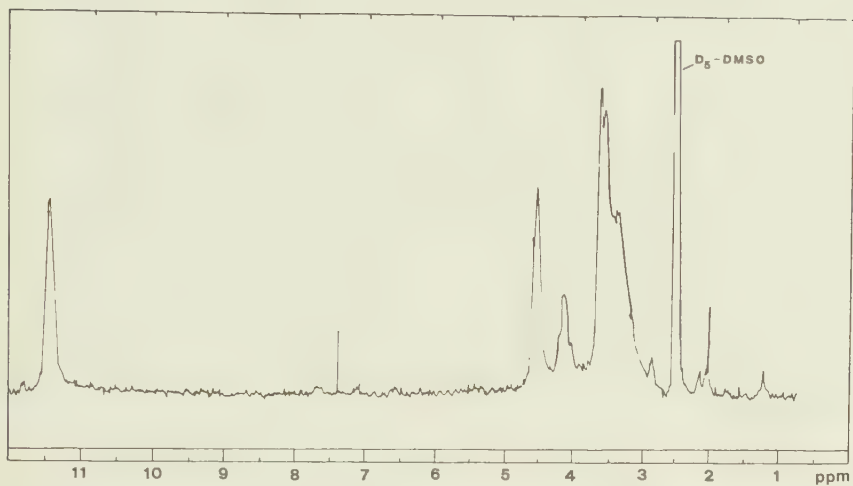
Figur 2: UV./VIS.-Spektrum von isoliertem R. P. gelb_{IV} (14);
 - - - - - 0,1N HCl,
 ——— H₂O,
 - · - 0,1N NaOH.



Figur 3: CD. -Spektrum von isoliertem R.P.gelb_{IV} (14) in H₂O.



Figur 4: IR. -Spektrum von isoliertem R.P.gelb_{IV} (14) in KBr.



Figur 5: ^1H -NMR.-Spektrum von isoliertem R.P.gelb_{IV} (14) in d_6 -DMSO.

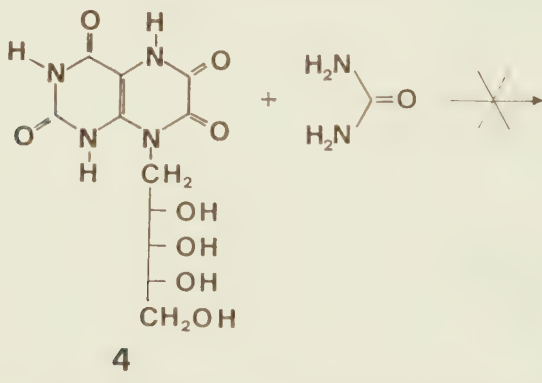


Figur 6: ^{13}C -NMR.-Spektrum von isoliertem R.P.gelb_{IV} (14) in d_6 -DMSO.

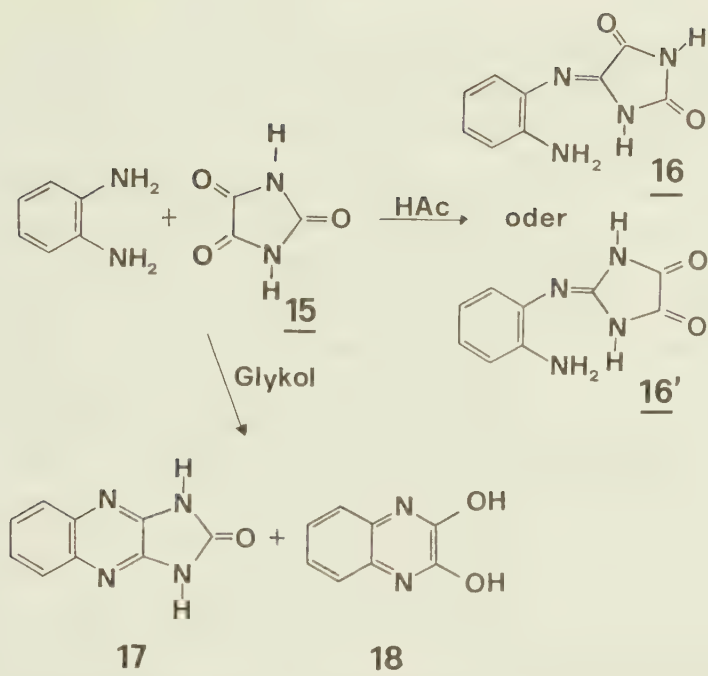
3. Synthesen von Modellsubstanzen für R.P.gelb_{IV} (14).

Synthesen von N(8)-substituierten 6,7-Diaminolumazinen sind in der Literatur noch nicht beschrieben worden. In der vorliegenden Arbeit mussten wir nach neuen Synthesewegen suchen. Als naheliegende Möglichkeit bot sich die Kondensation der seit längerer Zeit bekannten und leicht zugänglichen Dioxoverbindung 4 mit Harnstoff an. Wir testeten zahlreiche Reaktionsbedingungen in verschiedenen pH- und Temperatur-Bereichen. Keine führte auch nur zu Spuren des gesuchten Produktes. Sogar Kondensationen unter sehr drastischen Bedingungen wie in der Schmelze, in Polyphosphorsäure oder Glykol lieferten keine besseren Resultate.

All diese Ansätze bestätigten nur die grosse Stabilität und Reaktionsträgheit der Dioxoverbindung 4.



Als Alternative bot sich die Kondensation eines Uracilderivates mit der entsprechenden Dicarbonylverbindung an. Ein leicht zugänglicher, möglicher Kondensationspartner ist die Parabansäure (15) [39]. Dabei mussten jedoch recht unreaktive, cyclische Amidcarbonyle mit Aminfunktionen kondensiert werden. Als Modellreaktion wählten wir die Kondensation mit o-Phenylendiamin. Schema 5 zeigt zwei Wege auf, die zu definierten Produkten geführt haben.



Schema 5: Kondensationen von o-Phenylendiamin mit Parabansäure (15).

Bei der Kondensation des o-Phenylendiamins mit Parabansäure (15) in Eisessig konnte ein neues Produkt isoliert werden. Anhand der mikroanalytischen und massenspektroskopischen Daten handelt es sich hier nicht um das erwartete tricyclische System, sondern um eines der in Schema 5 angegebenen Produkte 16 oder 16'. Daraus geht klar hervor, dass nur eine der beiden Aminogruppen des o-Phenylendiamins mit einer der drei möglichen Carbonylgruppen der Parabansäure (15) reagiert hat. Mit Hilfe der ¹³C-NMR.-Spektren versuchten wir abzuklären, welches der beiden Produkte wirklich vorliegt. Für die Struktur 16 würden wir neben den 6 aromatischen C-Atomen und dem einen Amidin-C-Atom der Parabansäure zwei verschieden stark verschobene Signale für die Carbonyl-C-Atome erwarten. Dagegen müssten bei der Struktur 16' wegen der Symmetrie die beiden Carbonyl-C-Atome zusammenfallen. Da wir neben den 6 Signalen des Aromaten weitere 5

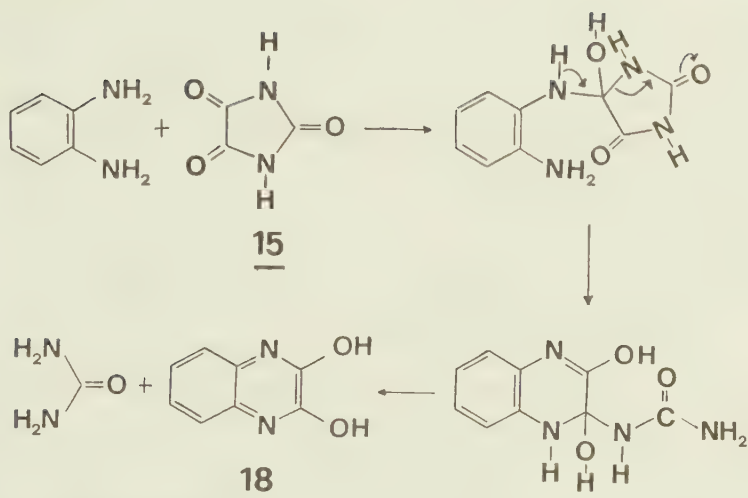
Signale im Carbonylbereich beobachteten, haben wir auf das Vorliegen von mindestens 2 Isomeren, bedingt durch N-Inversion geschlossen, was keine eindeutige Strukturzuordnung zuliess.

Da praktisch alle im wässrigen Milieu durchgeführten Kondensationen zu keinem eindeutigen Hauptprodukt geführt haben, wurde nach einer neuen Kondensationsmethode gesucht. Dabei musste einerseits eine genügend hohe Reaktionstemperatur wegen der niedrigen Reaktivität der Parabansäure (15) möglich sein, andererseits die bei der Reaktion nötige doppelte Wasserabspaltung begünstigt werden. Als günstige Methode erwies sich die Kondensation in Glykol bei 108° im Wasserstrahlvakuum unter Anwesenheit von katalytischen Mengen p-Toluolsulfonsäure. Das während der Reaktion gebildete Wasser konnte kontinuierlich dem Reaktionsgemisch entzogen werden.

Bei der Reaktion von o-Phenylendiamin mit Parabansäure (15) in Glykol wurden zwei Produkte isoliert (Schema 5). Beim Produkt 17 handelt es sich um die von uns erwartete Verbindung. Ihre Struktur wurde mit mehreren spektroskopischen Methoden bestätigt. Das zweite Produkt 18 ist eine zum Dioxolumazin 4 analoge Verbindung. Ein möglicher Bildungsweg ist im Schema 6 aufgezeichnet.

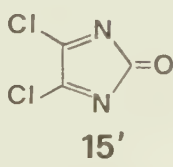
Aus den bisherigen Resultaten geht hervor, dass Parabansäure (15) zwar Kondensationen mit 1,2-Diaminoderivaten eingeht, aber die Reaktionen entweder auf der Monokondensationsstufe stehenbleiben, oder aber das gesuchte Produkt nur in sehr geringer Ausbeute gebildet wird. Deshalb wurde versucht, durch geeignete Derivatisierung die Reaktivität der Parabansäure (15) zu erhöhen.

Die beiden Carbonyl-C-Atome C(4) und C(5) weisen praktisch keinen elektrophilen Charakter auf, was für die erwünschte Kondensation sehr ungünstig ist. Durch geeignete Funktionalisierung der beiden NH-Gruppierungen mit Carbobenzyloxy-, Benzyl- oder Trimethylsilylgruppen, alles Funktionen, die nach erfolgreicher Kondensation leicht

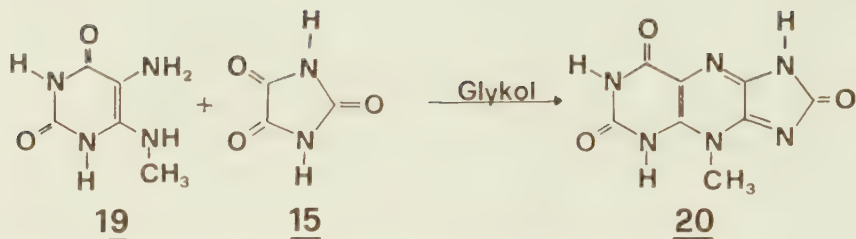


Schema 6: Möglicher Bildungsweg von 2,3-Dihydroxychinoxalin (18).

wieder abgespalten werden könnten, hofften wir, ein reaktiveres Parabansäurederivat zu erhalten. Doch alle Versuche, zu einem funktionalisierten Parabansäurederivat zu gelangen, schlugen fehl. In allen drei Fällen bildeten sich komplexe Gemische. Es ist uns ebenfalls nicht gelungen, durch Umsetzung von Parabansäure (15) mit POCl_3 und PCl_5 zu dem vermutlich recht reaktiven Dichlorderivat 15' zu gelangen.



Die für die Kondensation von o-Phenyldiamin mit Parabansäure (15) erfolgreichen Reaktionsbedingungen wurden bei der Reaktion zwischen 5-Amino-4-methyl-aminouracil (19) und Parabansäure (15) angewandt (Schema 7). Da wir für Diaminouracil-Derivate nicht die gleiche Reaktivität wie für o-Phenyldiamin erwarten dürfen, wurde das leichter zugängliche Methylaminouracil-Derivat 19 dem Ribitylanalogen zunächst vorgezogen.



Schema 7: Kondensation von 5-Amino-4-methylaminouracil (19) mit Parabansäure (15) in Glykol.

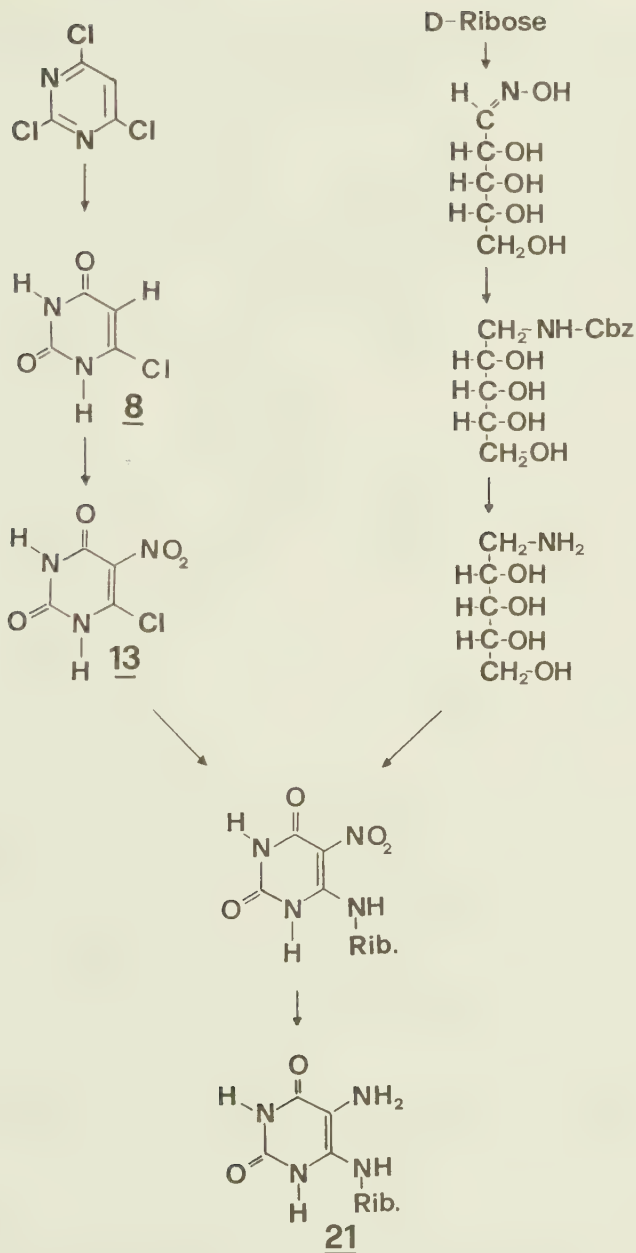
Die Kondensation von 5-Amino-4-methylaminouracil (19) mit Parabansäure (15) in Glykol lieferte zahlreiche Produkte. Da die Fluoreszenz und die UV.-Spektren der Verbindung 20 mit denjenigen des isolierten R. P. gelb_{IV} (14) übereinstimmten, konnten in dem Reaktionsgemisch auch kleinere Mengen des gesuchten Produktes nachgewiesen werden. Identifiziert wurde die vorliegende Substanz 20 mit Fluoreszenz- und UV.-Spektren; die IR.-Spektren weisen gegenüber der isolierten Verbindung einige Abweichungen auf, vor allem in der Carbonylregion. Dies könnte auf eine Wechselwirkung der Ribitylseitenkette mit dem Lumazingerüst zurückzuführen sein, was bei dem Methylderivat nicht möglich ist.

Wegen des recht komplexen Systems ist jegliche Zuordnung der IR.-Banden, vor allem in der Carbonylregion, unmöglich.

Da bei dieser Reaktion nur sehr wenig von Verbindung 20 gebildet wurde, konnte kein ¹H-NMR.-Spektrum aufgenommen werden. Wir sahen davon ab, für diese Modellsubstanz weitere grössere Ansätze durchzuführen und konzentrierten uns auf die Synthese der Zielsubstanz 14.

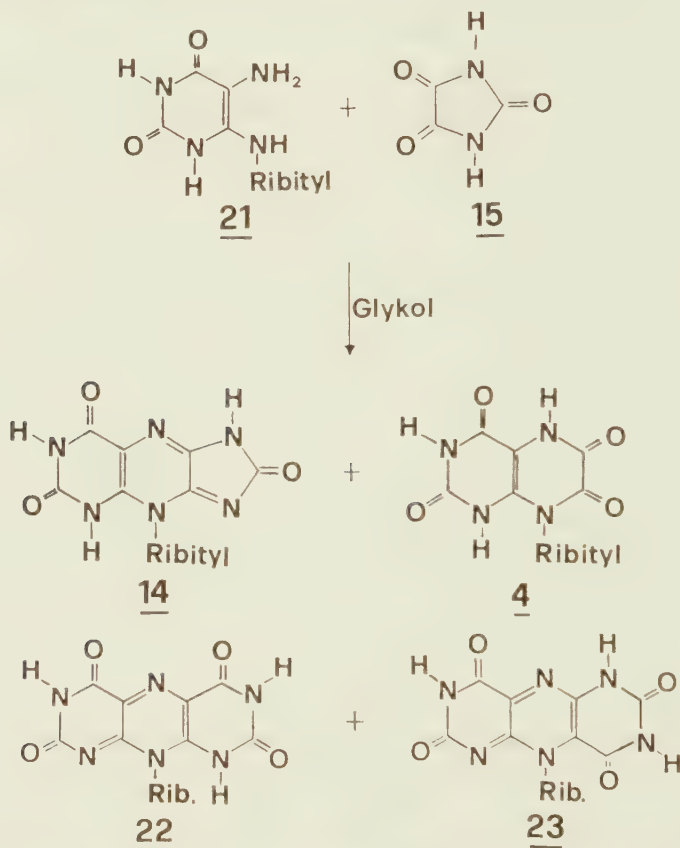
4. Synthese von R. P. gelb_{IV} (14).

Das für die Kondensation mit Parabansäure (15) benötigte 5-Amino-4-D-ribitylaminouracil (21) wurde in mehreren Stufen aus 2,4,6-Trichlorpyrimidin und D-Ribose nach Schema 8 synthetisiert.



Schema 8: Synthese von 5-Amino-4-D-ribitylaminouracil (21).

Die anschliessende Kondensation führten wir in Aethylenglykol mit einer katalytischen Menge p-Toluolsulfonsäure durch (Schema 9).



Schema 9: Kondensation von 5-Amino-4-D-ribitylaminouracil (21) mit Parabansäure (15) in Glykol.

Dabei konnten wir R.P.gelb_{IV} (14) in einer Ausbeute von 0,7% isolieren. Zahlreiche Versuche, durch Veränderung der Reaktionsbedingungen höhere Ausbeuten zu erhalten, schlugen fehl.

Die Identität des synthetisierten R.P.gelb_{IV} (14) mit der von uns isolierten Verbindung konnte mit allen uns zugänglichen analytischen und

spektroskopischen Daten bewiesen werden. Sie besitzt somit Struktur 14 oder ist ein Tautomeres davon. Unter den vielen bei der Kondensation gebildeten Produkten konnten neben R.P.gelb_{IV} (14) die 6,7-Dioxoverbindung 4 [40] und der Tricyclus 22 [29, 41] UV.-spektroskopisch nachgewiesen werden. Bei einer weiteren Komponente könnte es sich um den Tricyclus 23 handeln; einen Beweis dafür konnte ich jedoch nicht erbringen, da die spektroskopischen Daten dieser Verbindung in der Literatur bisher nicht beschrieben sind. Beide Tricyclen entstehen offensichtlich durch Dimerisierung des Diaminouracilderivates 21.

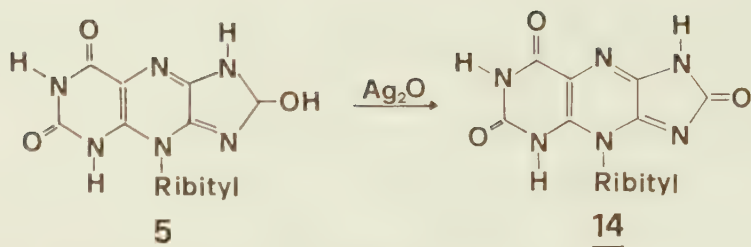
5. Partialsynthese von R.P.gelb_{IV} (14) aus R.P.gelb_I (5).

Gompper [42] postulierte für ein α -Formamido-keton folgendes Gleichgewicht:



Im Fall von R.P.gelb_I handelt es sich zwar um ein α -Formamidoimin-derivat 5: doch die von uns postulierte im Gleichgewicht vorliegende Imidazolinform stimmt mit der entsprechenden Oxazolinform bei Gompper überein. Vergleicht man nun R.P.gelb_I (5) mit R.P.gelb_{IV}(14), so fällt auf, dass sie sich nur durch die Oxidationsstufe des C-Atomes zwischen den beiden N-Atomen im 5-Ring unterscheiden. Demzufolge müsste sich also R.P.gelb_I durch geeignete Oxidation in R.P.gelb_{IV} überführen lassen. Diese Umwandlung gelang uns tatsächlich sowohl mit Tollens-Reagens, als auch in 0,1N NaOH mit Ag₂O (Schema 10).

Durch Vergleich der R_f-Werte und der UV.-Spektren (Tabelle 1 und 2) des so partialsynthetisch hergestellten R.P.gelb_{IV} mit den entsprechenden Daten der totalsynthetisierten resp. isolierten Verbindung konnte



Schema 10: Oxydation von R.P.gelb_I (5) zu R.P.gelb_{IV} (14).

ihre Identität bewiesen werden. Weitere spektroskopische Untersuchungen konnten wegen der sehr kleinen zur Verfügung stehenden Menge an R.P.gelb_I (5) nicht durchgeführt werden. Diese synthetische Verknüpfung beweist die Richtigkeit des Strukturvorschlages für R.P.gelb_I.

Rf-Werte:

Laufmittel	Partialsynthese	Totalsynthese
4proz. Na-Citrat	0,25	0,23
20proz. HAc	0,63	0,61
Butanol/Eisessig/H ₂ O (5:3:5)	0,22	0,22
3proz. NH ₄ Cl	0,36	0,33

Tabelle 1: Dünnschichtchromatographische Identifikation vom synthetisierten R.P.gelb_{IV} (14) und dem partialsynthetisch aus R.P.gelb_I (5) hergestellten Produkt (Cellulose).

UV./VIS. -Daten:

			$\lambda_{\text{max.}}$			$\lambda_{\text{min.}}$		Schulter
0,1N HCl	Totalsynthese	360	264	213		308	248	295 nm
	Partialsynthese	360	262			312	252	289 nm
0,1N NaOH	Totalsynthese	390	275	222		331	262	308 nm
	Partialsynthese	390	275			333	270	307 nm
H ₂ O	Totalsynthese	389	276	219		319	249	295 nm
	Partialsynthese	389	277			320	252	297 nm

Tabelle 2: UV./VIS. -spektroskopische Identifikation vom synthetisierten R.P.gelb_{IV} (14) und dem partialsynthetisch aus R.P.gelb_I (5) hergestellten Produkt.

6. Synthesen von Modellsubstanzen für

6-Amino-7-oxo-8-D-ribityl-7,8-dihydrolumazin (6).

Wie man Schema 1 entnehmen kann, entsteht bei der Hydrolyse von R.P.gelb_I (5) zu der bekannten Dioxoverbindung 4 eine neue Zwischenverbindung. Iten gelang es, durch milde Hydrolysebedingungen (100°, Normaldruck, 0,1N HCl oder 0,1N NaOH) diese Substanz zu isolieren und spektroskopisch zu untersuchen [2]. Anhand der vorhandenen Daten konnten wir für diese neue Verbindung den Strukturvorschlag 6 aufstellen (Abschnitt II.1.). Wegen der recht kleinen Menge an 6 war es uns nicht möglich, weitere spektroskopische Untersuchungen durchzuführen. Die postulierte Struktur 6 konnte also nur mit einer Totalsynthese bewiesen werden.

Da in der Literatur keine N(8)-substituierten 6- resp. 7-Aminolumazine bekannt sind, haben wir vorerst an mehreren Modellsubstanzen einige Reaktionstypen unter verschiedenen Reaktionsbedingungen ausprobiert. Als Ausgangsmaterialien verwendeten wir ausnahmslos leicht zugäng-

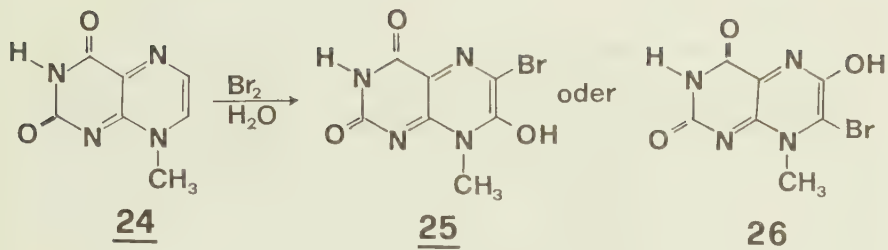
liche N(8)-substituierte Lumazine und versuchten, die C(6)- resp. C(7)-Atome zu funktionalisieren.

Als eine naheliegende Variante bot sich die Nitrierung resp. Nitrosierung von 8-Methylumazin (24) an.

Da wir bei allen durchgeführten Ansätzen jeweils nur das Edukt resp. das entsprechende Nitratsalz isoliert haben (Abschnitt VII.7.1.1.), versuchten wir ein N-Derivat an C(6) resp. C(7) indirekt einzuführen.

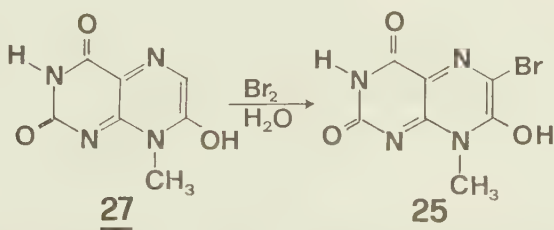
In einem 1. Reaktionsschritt sollte das entsprechende C-Atom mit einem guten Nukleofug substituiert werden, das sich dann anschliessend gegen eine Aminofunktion austauschen liesse. Als Ausgangsmaterial verwendeten wir wiederum das 8-Methylumazin (24), das wir mit $\text{Br}_2/\text{H}_2\text{O}$ bromierten. Die Reaktion lief sehr schnell ab, und das dabei gebildete Hauptprodukt konnte chromatographisch isoliert werden. Das UV.-Spektrum in H_2O zeigt gegenüber dem Edukt 24 eine hypsochrome Verschiebung der langwelligsten Bande um 43 nm. Das ^1H -NMR.-Spektrum weist keine C-H-Protonen mehr auf, d.h. sowohl das C(6)- als auch das C(7)-Atom sind substituiert worden. Im Massenspektrum können wir zusätzlich zum N(8)-Methylumazingerüst einen Br- und einen OH-Substituenten beobachten. Anhand der vorliegenden spektroskopischen Daten müssen für das neue Produkt zwei isomere Strukturen in Betracht gezogen werden (Schema 11).

Mit den uns zur Verfügung stehenden spektroskopischen Methoden können wir zwischen den Verbindungen 25 und 26 nicht unterscheiden. Eine Zuordnung ist also nur auf einem synthetischen Weg möglich, dabei müsste mindestens einer der beiden Isomeren aus anderen Edukten synthetisiert werden. Als eine sehr günstige Alternative bot sich die Bromierung von 8-Methyl-7-oxolumazin (27) an (Schema 12). Die Reaktion lief ebenfalls sehr schnell ab. Eine chromatographische Reinigung erwies sich als nicht notwendig, da praktisch nur ein Produkt gebildet wurde.



Schema 11: Bromierung von 8-Methylumazin (24).

Dass es sich bei diesem um die Verbindung 25 handelt, konnte mit ^1H -NMR. - und MS. -Spektren gezeigt werden.



Schema 12: Bromierung von 8-Methyl-7-oxolumazin (27) zu 25.

Die UV. -Spektren weisen jetzt in H_2O gegenüber dem Edukt 27 eine bathochrome Verschiebung der langwelligsten Bande um nur 7 nm auf. Dieser Effekt ist nicht sehr überraschend, da wir annehmen, dass ein Substituent am C(6)-Atom keinen wesentlichen Einfluss auf das chromophore System des entsprechenden Lumazins hat. Ferner folgt sowohl aus den UV. -Daten, als auch aus den unterschiedlichen R_f -Werten, dass bei der Bromierung von 8-Methylumazin (24) das Isomere 26 als Hauptprodukt gebildet worden ist.

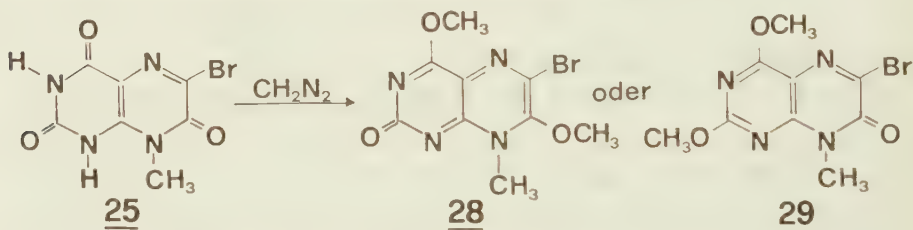
Um schliesslich zu unserer Zielsubstanz, dem 6-Amino-8-methyl-7-oxolumazin, zu gelangen, sollte bei der Verbindung 25 das Bromid durch ein Aminonucleophil substituiert werden. Die Reaktion wurde mit Benzylamin durchgeführt; weder bei der Verbindung 25 noch bei 26 gelang uns eine Substitution. Wir müssen also annehmen, dass die

C-Br-Bindung gegenüber Nucleophilen recht beständig ist.

Deshalb versuchten wir, die C(7)-Oxo-Gruppe in 25 zu derivatisieren, um sie anschliessend nucleophil substituieren zu können. Dies würde zwar zu einem C(7)-Aminolumazinderivat führen, doch könnte man annehmen, dass sich so auch die Reaktivität der C(6)-Bindung zugunsten einer nucleophilen Substitution beeinflussen liesse.

Nach einem solchen zweimaligen Umsatz mit einem N-Nucleophil würde ein 6,7-Diaminolumazinderivat resultieren, was für eine spätere Synthese von R. P. gelb_I (5) oder R. P. gelb_{II} (7) sehr vorteilhaft wäre.

Wir wählten die Methylierung mit Diazomethan zu der entsprechenden Methoxyverbindung (Schema 13). Solche Reaktionen sind in letzter Zeit in unserer Arbeitsgruppe durchgeführt worden [43].

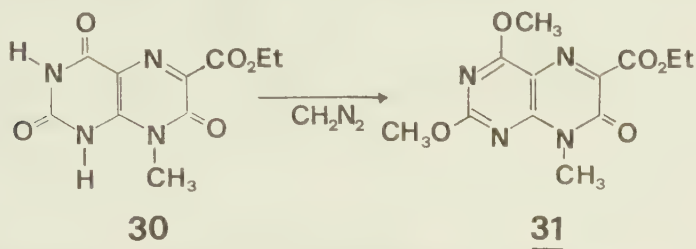


Schema 13: Methylierung von 6-Brom-8-methyl-7-oxolumazin (25).

Bei der Reaktion von 6-Brom-8-methyl-7-oxolumazin (25) mit Diazomethan konnte zwar dünnschichtchromatographisch die Bildung von 2 Produkten beobachtet werden, doch nach mehrfachem Umkristallisieren konnten wir nur ein Hauptprodukt isolieren. Das Massenspektrum wies auf einen zweimaligen Umsatz mit Diazomethan hin.

Laut ^1H -NMR.-Spektrum enthält das neue Produkt neben der ursprünglichen N(8)-Methylgruppe zwei neue Methoxygruppen. Ob es sich hier um die Verbindung 28 oder 29 handelt, kann mit den vorhandenen Spektren nicht entschieden werden. Ein analoges Problem stellte sich für die Reaktion, die in Schema 14 dargestellt ist [43]. Eine eindeutige

Strukturzuordnung gelang dort nur mit ^3J -Kopplungen in unentkoppelten ^{13}C -NMR.-Spektren. Dies war möglich, da einerseits recht grosse Mengen an 31 vorlagen und andererseits eine sehr hohe Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln vorhanden war.

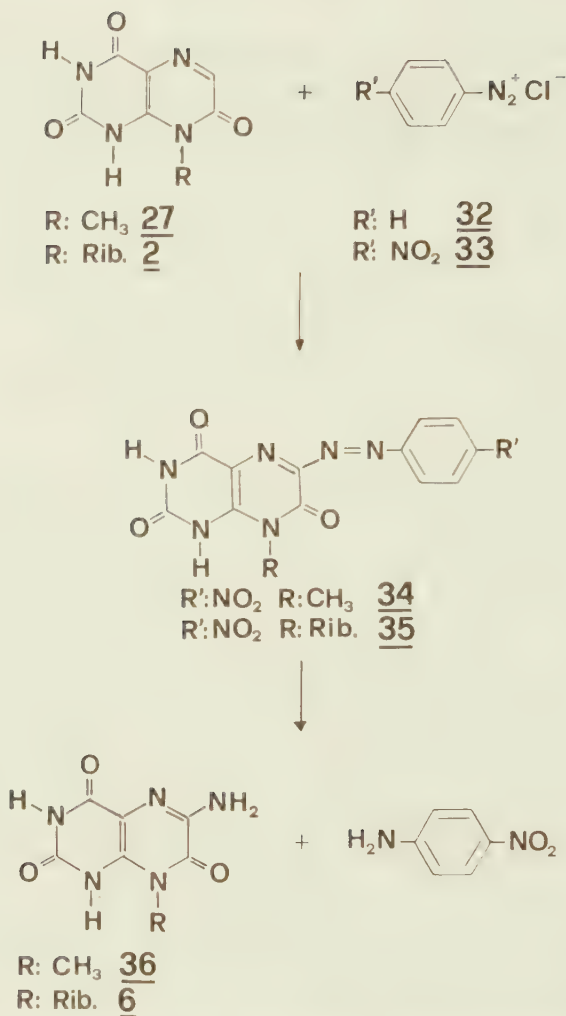


Schema 14: Methylierung von 6-Carboäthoxy-8-methyl-7-oxolumazin (30).

In unserem Fall lagen diese beiden Voraussetzungen nicht vor, deswegen können wir hier nur gewisse Annahmen treffen. Bei der Methylierung des Eduktes 30 mit Diazomethan wird nur das Produkt 31 gebildet, was beim Edukt auf das Vorliegen der im Schema 14 angegebenen tautomeren Form hinweist. Eine analoge Annahme kann auch im Fall des Eduktes 25 getroffen werden, was zu Folge hat, dass bei der entsprechenden Methylierung von 25 das Produkt 29 resultieren müsse. Eine Reaktion mit Benzylamin oder einem anderen N-Nucleophil würde nur eine Substitution der C(2)- resp. C(4)-Methoxygruppe zu Folge haben. Da eine solche Reaktionsfolge unerwünscht ist, suchten wir nach einer Alternativsynthese ausgehend von 7-Oxo-8-methylamino(oder D-ribitylamino)lumazin (Schema 15).

Im 1. Schritt sollte am C(6)-Atom des entsprechenden Derivates der Desmethyl-V-Compound eine Azokupplung durchgeführt werden. Nach einer erfolgreichen Spaltung der N=N-Doppelbindung würde schon nach dem 2. Reaktionsschritt das gesuchte Produkt 36 (oder 6) resultieren.

Zunächst wurde die Azokupplung mit Phenyl diazoniumsalz 32 durchgeführt. Der Reaktionsverlauf wurde dünnschichtchromatographisch ver-



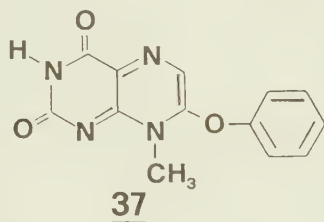
Schema 15: Azokupplung mit 27 resp. 2 und anschliessender Reduktion.

folgt; die säulenchromatographische Aufarbeitung erfolgte erst, nachdem kein Edukt 27 mehr im Reaktionsgemisch nachgewiesen werden konnte. Trotzdem isolierten wir 20% Ausgangsmaterial zurück. Im Verlauf der Reaktion muss sich also eine instabile Zwischenverbindung bilden, die bei der Aufarbeitung wieder zerfällt.

Neben dem Edukt konnten wir auch ein neues Produkt isolieren. Das

Massenspektrum weist zwar auf eine Kupplung hin, doch ohne die entscheidende N=N-Gruppierung. Nach [44] ist zwar eine Abspaltung von N₂ im Massenspektrometer, gefolgt von einer Rekombination der entsprechenden Reste möglich. Das ¹H-NMR.-Spektrum weist dagegen eindeutig auf die Anwesenheit des C(6)-H-Atomes hin.

Somit dürfte es sich beim vorliegenden Produkt um die Verbindung 37 (8-Methyl-7-phenoxy-7,8-dihydrolumazin) handeln.

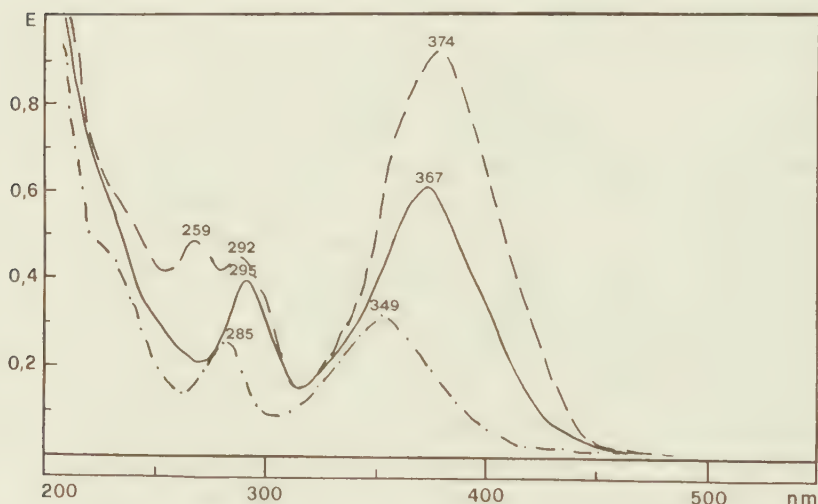


Die UV.-Spektren entsprechen einem Lumazinchromophor (Figur 7). In allen 3 pH-Bereichen können wir eine bathochrome Verschiebung der langwelligsten Banden gegenüber Edukt 27 um jeweils 16 bis 18 nm beobachten. Bei einer effektiv erfolgten Azokupplung würden wir wesentlich grössere bathochrome Verschiebungen erwarten.

Mit dem reaktiveren p-Nitrophenyldiazoniumchlorid färbte sich das Reaktionsgemisch nach kurzer Zeit braun-rot. Im DC. konnte neben vielen Nebenprodukten die Bildung einer neuen roten Verbindung beobachtet werden. Ihre säulenchromatographische Isolierung erwies sich als sehr mühsam.

Erst eine Chromatographie an DEAE-Cellulose mit 70proz. Essigsäure lieferte eine recht reine Substanz. Diese chromatographische Reinigung war möglich, da die gesuchte rote Komponente an der DEAE-Cellulose stark haftete und somit die Nebenprodukte mit steigendem Essigsäuregradient abgetrennt werden konnten. Erst ab ca. 60proz. Essigsäure konnte diese rote Verbindung desorbiert werden.

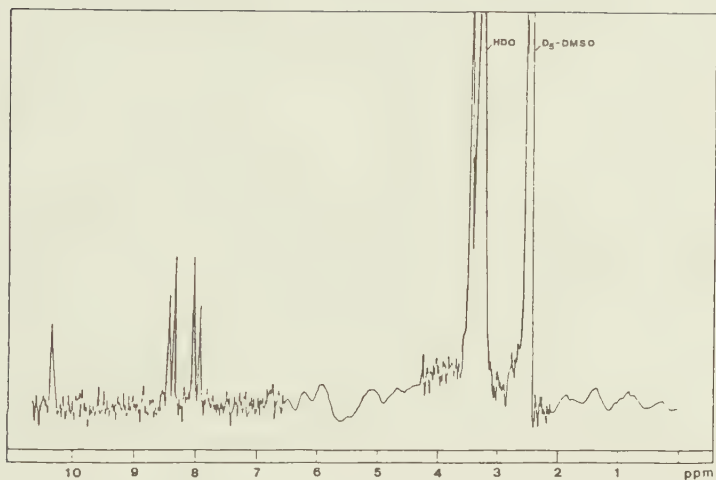
Im ^1H -NMR.-Spektrum (Figur 8) können wir neben einer N-CH_3 - und einer N-H -Gruppe ein AA'BB' -System beobachten, das den 4 aromatischen Protonen zugeordnet werden kann. Das Massenspektrum weist zwar den richtigen Molekularpeak auf, wegen der sehr schnellen thermischen Zersetzung kann hier jedoch keine Fragmentierung beobachtet werden. Im IR.-Spektrum können wir zusätzlich zu den Banden des Lumazingerüsts eine starke Bande bei 1335 cm^{-1} beobachten, die der in Konjugation stehenden NO_2 -Gruppe zugeordnet werden kann. Die zweite NO_2 -Bande, die bei 1525 cm^{-1} zu erwarten wäre, fällt wahrscheinlich mit den Banden des Lumazingerüsts zusammen.



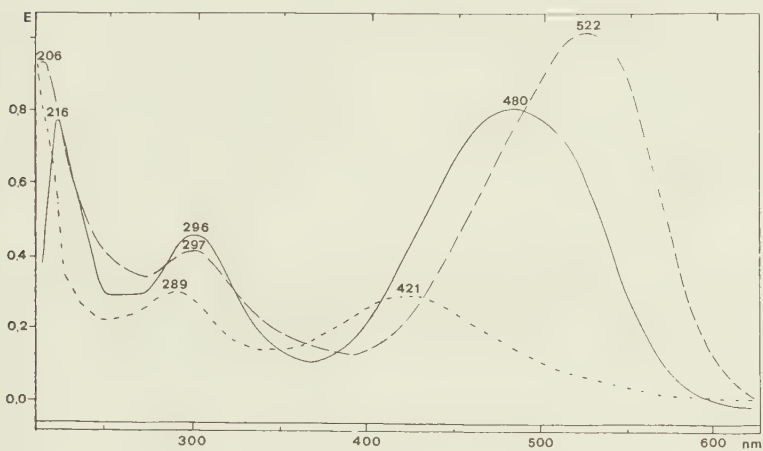
Figur 7: UV./VIS.-Spektrum von 8-Methyl-7-phenoxy-7,8-dihydrolumazin (37); ----- 0,1N NaOH, - · - · - 0,1N HCl, — H_2O .

Die UV.-Spektren (Figur 9) weisen gegenüber dem Edukt 27 eine starke bathochrome Verschiebung auf.

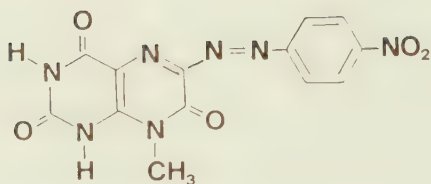
Bei der roten Komponente handelt es sich also um die gesuchte Verbindung 34 (8-Methyl-6-p-nitrophenylazo-7-oxo-7,8-dihydrolumazin).



Figur 8: ^1H -NMR.-Spektrum von 8-Methyl-6-p-nitrophenylazo-7-oxo-7,8-dihydrolumazin (34) in d_6 -DMSO.

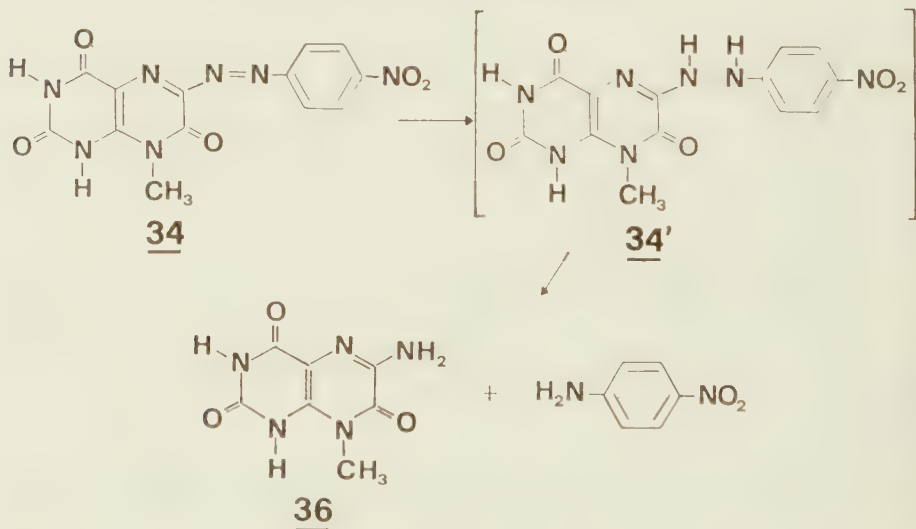


Figur 9: UV./VIS.-Spektrum von 8-Methyl-6-p-nitrophenylazo-7,8-dihydrolumazin (34); --- 0,1N NaOH, -.-.- 0,1N HCl, — H_2O .



34

Somit konnte zum ersten Mal ein N(8)-substituiertes Lumazin mit einer Stickstofffunktion am C(6)-Atom synthetisiert werden. Die N=N-Doppelbindung konnten wir mit Sn in Ameisensäure spalten. Die Reaktion verlief schnell, schon nach 2-3 Min. entfärbte sich die tief rote Lösung. Wird nach dieser kurzen Zeit jedoch aufgearbeitet, so isoliert man nach einer Säulenchromatographie einen Teil des Eduktes 34 zurück. Lässt man dagegen die Reaktion bei R.T. ca. 50 Min. ablaufen, kann nach analoger Aufarbeitung kein Edukt mehr beobachtet werden. Dieses Phänomen kann nur mit einer zweistufig ablaufenden Reduktion der Azoverbindung erklärt werden (Schema 16).

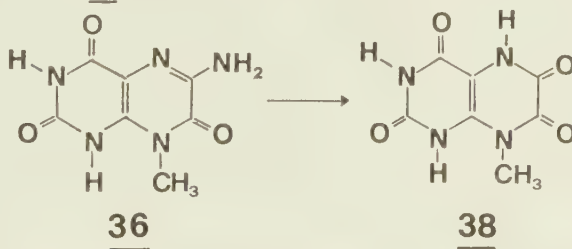


Schema 16: Verlauf der N=N-Spaltung von 34 zu 36.

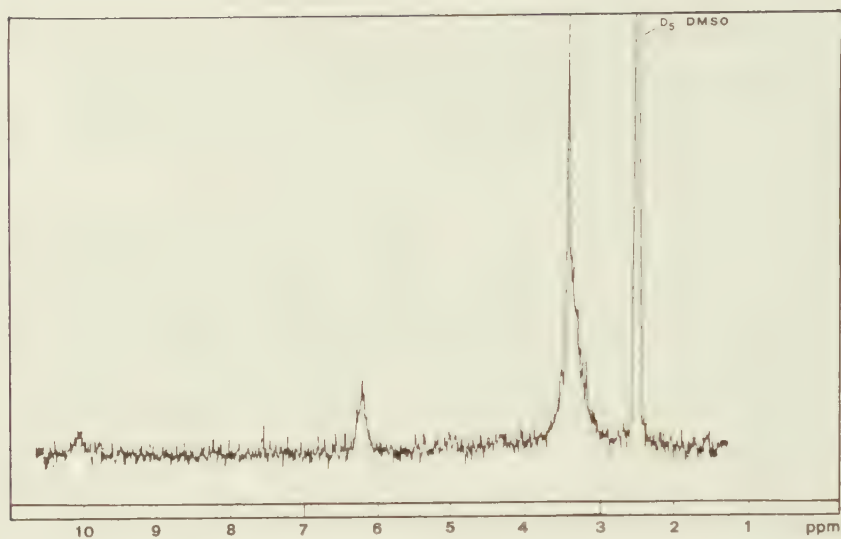
Bei der primär gebildeten Hydrazoverbindung 34' ist die Konjugation unterbrochen, deswegen beobachten wir Entfärbung der roten Lösung. Dass es sich beim isolierten Produkt um die Verbindung 36 handelt, kann mit spektroskopischen Daten gezeigt werden.

Im $^1\text{H-NMR}$. -Spektrum beobachten wir neben der N-Methylgruppe und einem N-H-Proton ein zusätzliches, breites Signal, das mit D_2O austauschbar ist und der NH_2 -Gruppe zugeordnet werden kann (Figur 10). Das Massenspektrum weist analog zu der Verbindung 34 praktisch nur den Molekularpeak auf. Die UV. -Spektren (Figur 11) stimmen mit denjenigen der von isoliertem R. P. gelb_I durch Hydrolyse erhaltenen Verbindung 6 völlig überein.

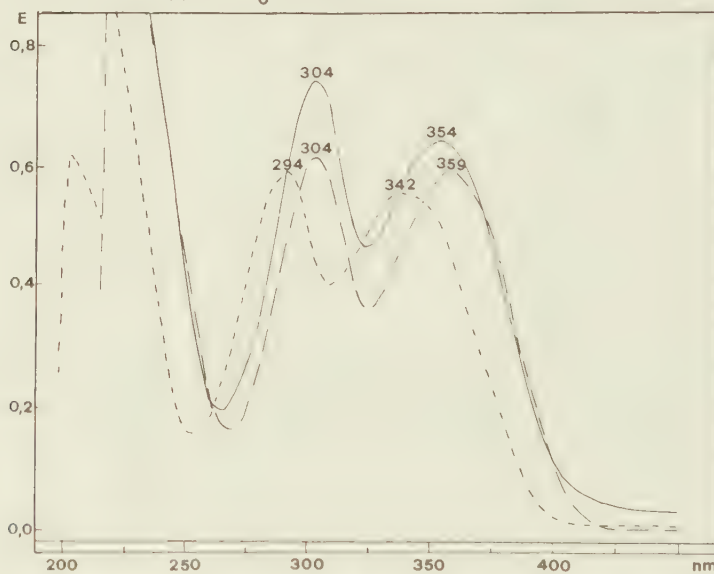
Analog zum hydrolytischen Abbau von R. P. gelb_I über die Zwischenverbindung 6 zu 6,7-Dioxolumazin 4, wurde eine entsprechende Hydrolyse auch bei der Verbindung 36 durchgeführt. Bei 150° (Bombenrohr) in 2proz. Essigsäure lässt sich die von uns synthetisierte Verbindung 36 praktisch vollständig zum entsprechenden 6,7-Dioxo-8-methyl-5,6,7,8-tetrahydrolumazin (38) hydrolysieren (Schema 17).



Schema 17: Hydrolyse von 6-Amino-8-methyl-7-oxo-7,8-dihydrolumazin (36) in 2proz. Essigsäure bei 150° (Bombenrohr) zu 6,7-Dioxo-8-methyl-5,6,7,8-tetrahydrolumazin (38).



Figur 10: ^1H -NMR.-Spektrum von 6-Amino-8-methyl-7-oxo-7,8-dihydrolumazin (36) in d_6 -DMSO.

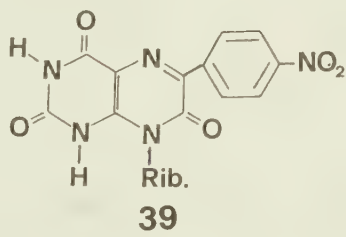


Figur 11: UV./VIS.-Spektrum von 6-Amino-8-methyl-7-oxo-7,8-dihydrolumazin (36); — — — 0,1N NaOH, - · - · - 0,1N HCl, — H_2O .

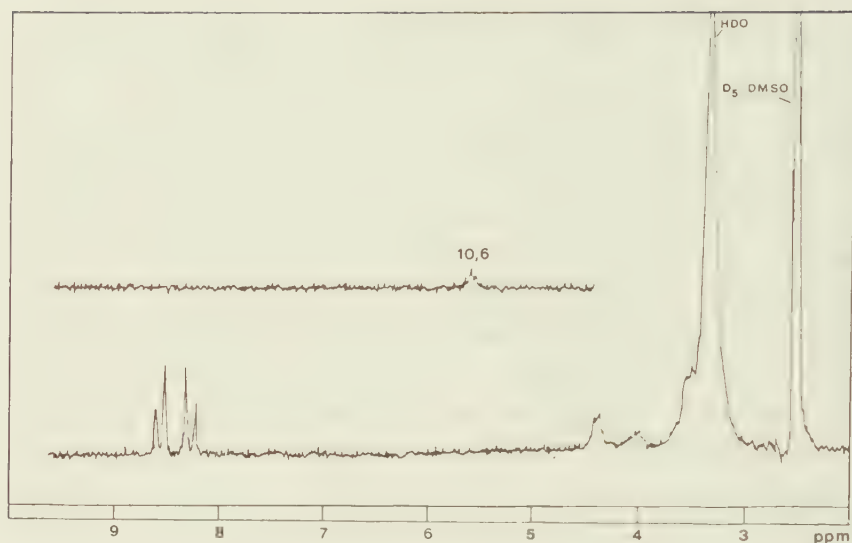
7. Synthese von 6-Amino-7-oxo-8-D-ribityl-7,8-dihydrolumazin (6).

Die Desmethyl-V-Compound 2 wurde aus 5-Amino-4-D-ribitylamino-uracil und Glyoxylsäure-äthylester-halbacetal nach [19] synthetisiert und anschliessend analog zur Verbindung 27 mit p-Nitrophenyldiazonium-chlorid (33) kondensiert (Schema 15). Das Reaktionsgemisch färbte sich wiederum nach kurzer Zeit rot. Nachdem im DC. kein Edukt 2 mehr nachgewiesen werden konnte, wurde das Gemisch aufgearbeitet. Nach wiederholter Säulenchromatographie gelang uns, neben wenig Edukt 2, zwei neue Produkte zu isolieren. Eines davon ist gelb gefärbt, mit sehr intensiver gelb-blauer Fluoreszenz. Das ¹H-NMR.-Spektrum (Figur 12) weist neben der N(8)-D-Ribitylgruppe und einem N-H-Proton analog zu Verbindung 34 ein AA'BB'-System auf. Wegen seiner gelben Farbe und den UV.-Spektren (Figur 13), die im Vergleich mit Verbindung 34 relativ kleine bathochrome Verschiebungen gegenüber dem Edukt 2 aufweisen, mussten wir auf die Abwesenheit der N=N-Gruppierung schliessen. Diese Annahme konnte mit einer Mikroanalyse bestätigt werden. Wegen der Ribitylgruppe konnte kein Massenspektrum erhalten werden.

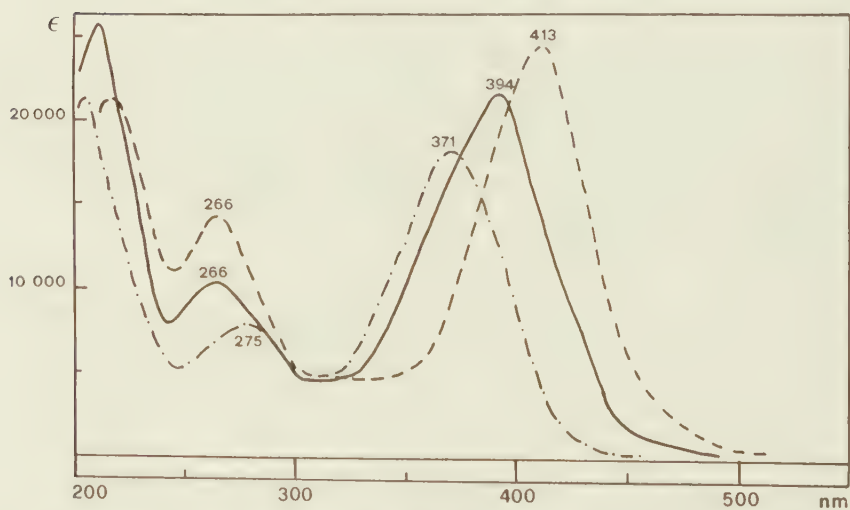
Dass es sich hier nicht um eine zu 37 analoge Verbindung handelt, kann mit dem ¹H-NMR.-Spektrum (Figur 12) gezeigt werden. Wir können eindeutig die Anwesenheit eines C(6)-H-Protons ausschliessen. Aus allen Daten folgt für das gelbe Produkt die Struktur 39 (6-p-Nitrophenyl-7-oxo-8-D-ribityl-7,8-dihydrolumazin).



Das zweite Produkt bei der Kupplungsreaktion von 2 mit 33 ist die von uns gesuchte Verbindung. Diese wurde analog zu Verbindung 34 isoliert.



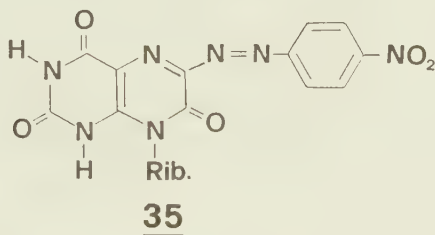
Figur 12: ^1H -NMR.-Spektrum von 6-p-Nitrophenyl-7-oxo-8-D-ribityl-7,8-dihydrolumazin (39) in d_6 -DMSO.



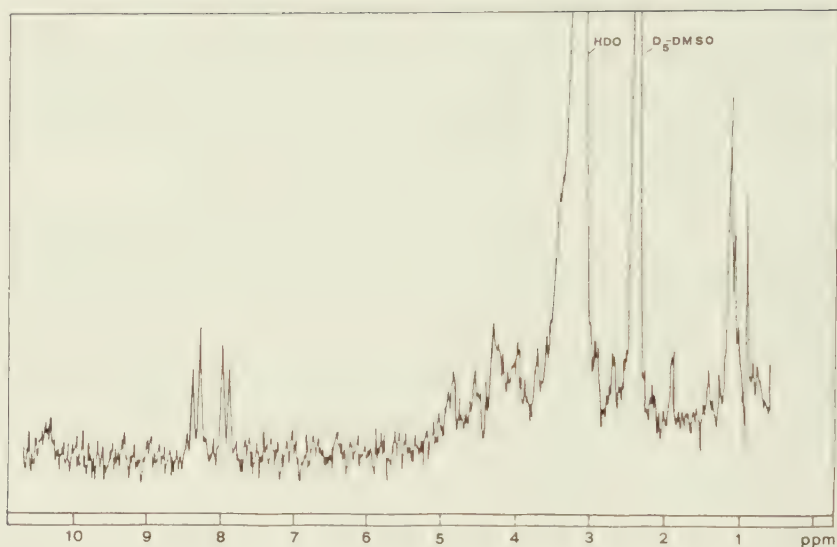
Figur 13: UV./VIS.-Spektrum von 6-p-Nitrophenyl-7-oxo-8-D-ribityl-7,8-dihydrolumazin (39); ---- 0,1N NaOH, -.-.- 0,1N HCl, ——— H_2O .

Anhand der vorliegenden ^1H -NMR.-Spektren (Figur 14), die wiederum ein AA'BB'-System aufweisen und der UV.-Spektren (Figur 15), die praktisch identisch mit denjenigen der Verbindung 34 sind, können wir dieser Substanz eindeutig die Struktur 35 zuordnen; es handelt sich um 6-p-Nitrophenylazo-7-oxo-8-D-ribityl-7,8-dihydrolumazin.

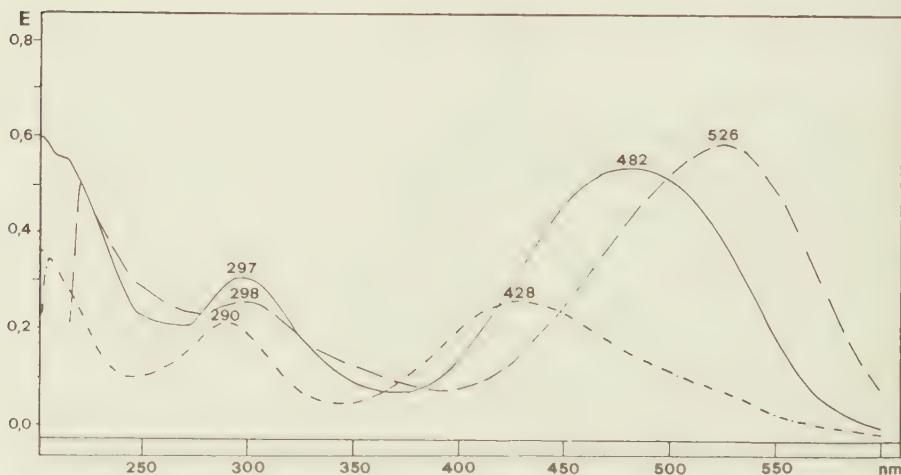
Wie schon bei der Azokupplungsreaktion von 27 mit Phenyldiazonium-chlorid (32), muss auch bei der hier vorliegenden Reaktion von 2 mit 33 (Schema 15) primär die Bildung eines instabilen Zwischenproduktes postuliert werden. In beiden Fällen konnten wir zwar nach Reaktionsablauf dünnschichtchromatographisch kein Edukt mehr nachweisen, jedoch nach der Aufarbeitung jeweils Eduktanteile wieder isolieren.



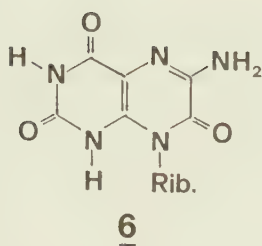
Die Reduktion von 35 zu der 6-Amino-7-oxoverbindung 6 wurde wiederum mit Sn in Ameisensäure ausgeführt. Die nach der Reduktion erhaltene und säulenchromatographisch isolierte Verbindung wurde spektroskopisch und dünnschichtchromatographisch untersucht. Die R_f-Werte des synthetisierten Produktes in vier verschiedenen Laufmitteln stimmen mit denjenigen der durch Hydrolyse von 5 erhaltenen Verbindung 6 überein (Tabelle 3). Ebenso finden wir auch bei den UV.-Spektren in allen drei pH-Bereichen Übereinstimmung (Figur 16). Das ^1H -NMR.-Spektrum weist neben der N(8)-D-Ribitylgruppe und einem N-H-Proton ein breites, mit D₂O austauschbares Signal auf, das einer NH₂-Gruppe zugeordnet werden kann (Figur 17). Wir können damit eindeutig zeigen, dass es sich bei diesem Produkt um die gesuchte Verbindung 6 handelt.



Figur 14: ^1H -NMR.-Spektrum von 6-p-Nitrophenylazo-7-oxo-8-D-ribityl-7,8-dihydrolumazin (35) in d_6 -DMSO.



Figur 15: UV./VIS.-Spektrum von 6-p-Nitrophenylazo-7-oxo-8-D-ribityl-7,8-dihydrolumazin (35); — — — 0,1N NaOH, — · — · — 0,1N HCl, — H_2O .



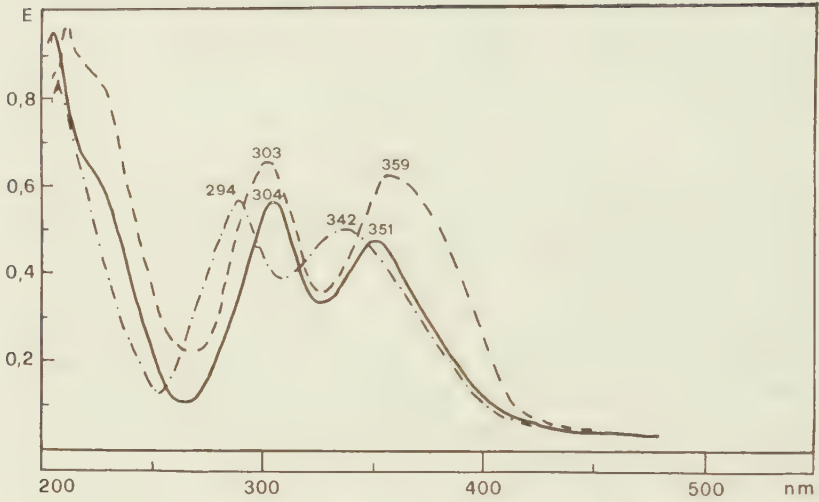
Es ist uns nicht gelungen, für diese Verbindung eine stimmende Mikroanalyse und ein brauchbares Massenspektrum zu erhalten.

Das 6-Amino-7-oxo-8-D-ribityl-7,8-dihydrolumazin (6) ist sowohl unter sauren wie auch unter basischen Hydrolysebedingungen recht beständig. Erst eine Hydrolyse bei 150⁰ in wässriger Essigsäure (Bombenrohr) führt zu der erwarteten 6,7-Dioxoverbindung 4.

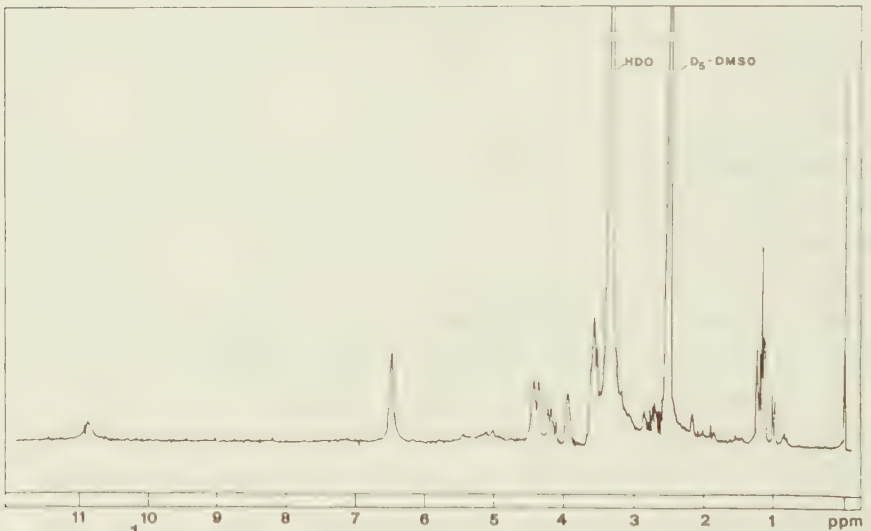
Rf-Werte:

Laufmittel	synthetisches <u>6</u>	<u>6</u> aus <u>5</u>
4proz. Na-Citrat	0,44	0,43
Butanol/Eisessig/Wasser (5:3:5)	0,55	0,56
3proz. NH ₄ Cl	0,60	0,62
20proz. HAc	0,86	0,86

Tabelle 3: Dünnschichtchromatographische Identifikation vom synthetisierten 6-Amino-7-oxo-8-D-ribityl-7,8-dihydrolumazin (6) mit der durch Hydrolyse aus 5 erhaltenen Verbindung 6 (Cellulose).



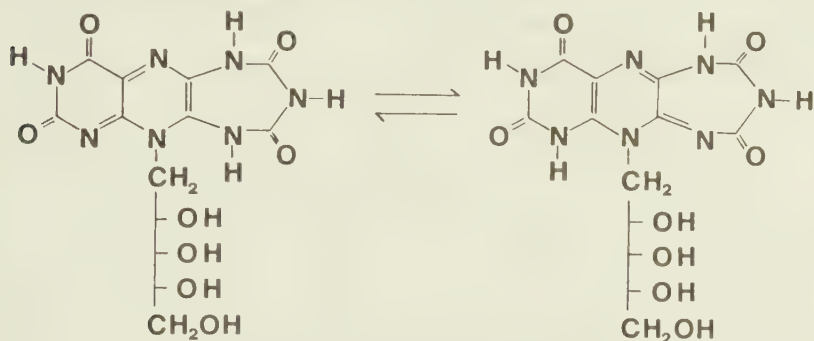
Figur 16: UV. /VIS. -Spektrum von 6-Amino-7-oxo-8-D-ribityl-7,8-dihydrolumazin (6); --- 0,1N NaOH, -.-.- 0,1N HCl, — H₂O.



Figur 17: ¹H-NMR. -Spektrum von 6-Amino-7-oxo-8-D-ribityl-7,8-dihydrolumazin (6) in d₆-DMSO.

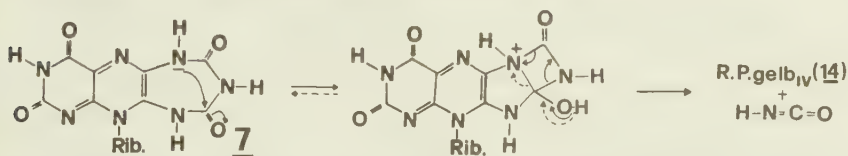
8. Syntheseversuche zur Darstellung eines Tetraoxotriazepinderivates.

Wie schon im Abschnitt II.1. beschrieben worden ist, konnten wir anhand der vorliegenden spektroskopischen Daten für R. P. gelb_{II} den Strukturvorschlag 7 machen.



7

Eine solche Struktur scheint zwar recht instabil zu sein, da eine intramolekulare Ringverengung des an das Lumazingerüst ankondensierte Triazepins zu einem Imidazolderivat eintreten könnte (Schema 18). Der dabei gebildete Vierring müsste sich voraussichtlich unter Oeffnung einer C-N-Bindung in ein Imidazolonderivat umwandeln. Gegen diese Annahme spricht allerdings, dass unter Hydrolysebedingungen nie die Bildung von R. P. gelb_{IV} (14) beobachtet worden ist.



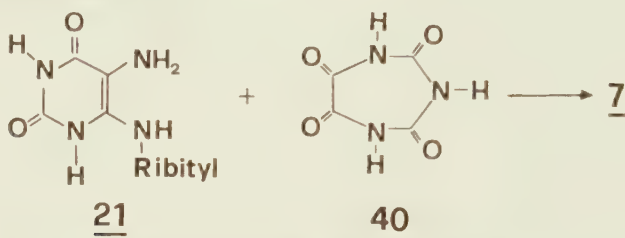
Schema 18: Mögliche Ringverengung bei 7 unter Bildung von 14.

Die oben beschriebenen Vermutungen können natürlich wegen des unbekannten Einflusses des N(8)-D-Ribityllumazingerüsts auf den Triazepinring nicht zutreffen.

Als einziges Hydrolyseprodukt von R. P. gelb_{II} beobachteten wir die

Dioxoverbindung 4.

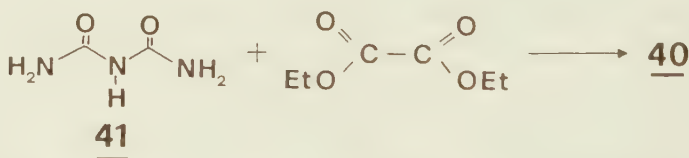
Um die nicht erwartete Stabilität der vorgeschlagenen Struktur 7 abzuklären, versuchten wir diese Verbindung zu synthetisieren. Nach den bisherigen Erfahrungen bietet sich eine Kondensation zwischen 5-Amino-4-D-ribitylaminouracil (21) und dem 2,4,5,7-Tetraoxotriazepin (40) an (Schema 19).



Schema 19: Kondensationsmöglichkeit von 21 mit 40 zu 7.

Im Folgenden werden einige der durchgeführten Versuche zur Synthese von Tetraoxotriazepin resp. seiner Derivate diskutiert.

Analog zu der Synthese von Parabansäure (15) [39] bot sich zunächst die Kondensation von Biuret 41 mit Oxalsäurediäthylester an (Schema 20).



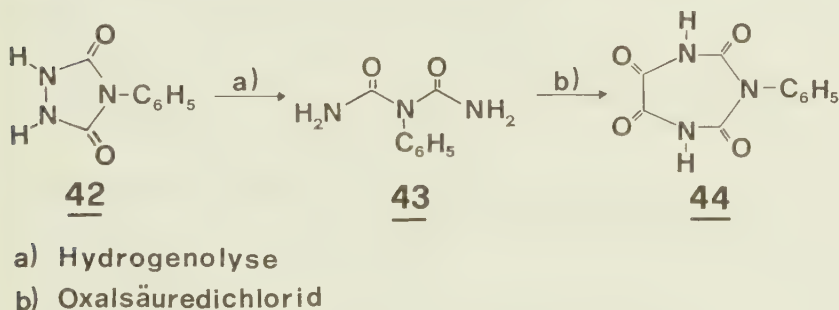
Schema 20: Syntheserversuch zur Herstellung von 40 aus Biuret 41 und Oxalsäurediäthylester.

Unter den gleichen Bedingungen, wie sie für die Synthese von Parabansäure (15) beschrieben sind [39], bildete sich auch hier ein neues Produkt. Das ¹H-NMR.-Spektrum der zweimal umkristallisierten Substanz weist zwei NH₂-Gruppen bei 6,8ppm, eine NH-Gruppe bei 8,4ppm und

weitere zwei NH-Gruppen bei 11,7ppm auf. Da es sich hier eindeutig nicht um ein Siebenringsystem handelt, wurde auf eine weitere Strukturaufklärung verzichtet.

Wir nehmen jedoch an, dass möglicherweise die sekundäre NH-Gruppe des Biuret (41) ebenfalls mit dem Oxalsäurediäthylester reagierte; demzufolge ist es nötig, diese Gruppe vor den folgenden Kondensationen zu schützen.

Wegen der beiden primären NH_2 -Gruppen der Verbindung 41 ist es schwierig, selektiv die sekundäre NH-Gruppe mit einer geeigneten Schutzgruppe zu versehen. Deshalb mussten wir anstelle von Biuret (41) andere Ausgangsmaterialien einsetzen. Als eine naheliegende Variante bot sich zunächst das leicht zugängliche 4-Phenylurazol (42) an. Die Phenylgruppe lässt sich zwar nicht mehr abspalten, doch gelingt uns die angestrebte Reaktionsfolge (Schema 21), so könnten wir sie auf das wesentlich schwerer zugängliche Benzylurazol übertragen.



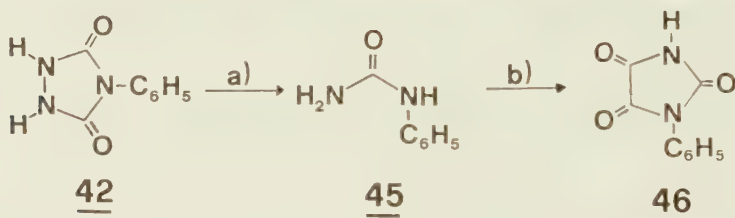
Schema 21: Versuch einer Synthese von 44 aus Phenylurazol (42).

Nach der Spaltung der N-N-Bindung bei 42 müssten wir an der sekundären NH-Gruppe geschütztes Biuret erhalten. Die anschliessende Kon-

densation mit Oxalylchlorid sollte zumindest theoretisch keine unerwünschten Nebenprodukte liefern.

Die Verbindung 42 wurde nach [45] synthetisiert. Nachdem einige Hydrogenolyseversuche, wie z.B. H_2/Pd auf $BaSO_4$ in wässriger Essigsäure oder Zn in Eisessig misslangen, wurde nach [46] eine erfolgreiche N-N-Spaltung mit Raney-Ni in Aethanol durchgeführt.

Die mit frisch hergestelltem Raney-Ni durchgeführte Hydrogenolyse von 42 lieferte ein neues Produkt, dessen 1H -NMR.-Spektrum jedoch zusätzlich zu den 5 aromatischen Protonen nur eine NH_2 - und eine NH-Gruppe aufwies. Versetzt man dieses Produkt mit Oxalylchlorid, so kann nur Phenylparabansäure 46 isoliert werden (Schema 22).



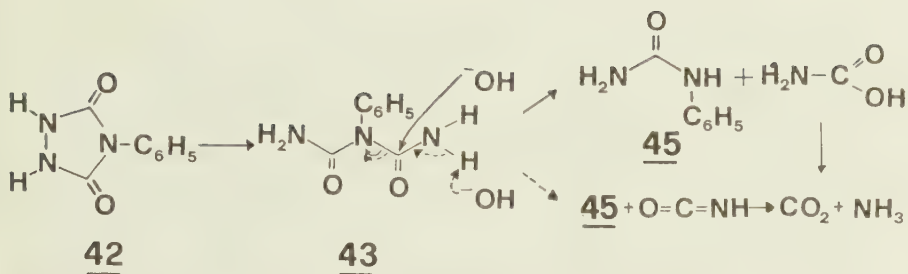
a) Raney-Ni

b) Oxalsäuredichlorid

Schema 22: Katalytische N-N-Hydrogenolyse von 42 mit anschliessender Kondensation mit Oxalylchlorid.

Raney-Ni wird in einem stark basischen Milieu hergestellt [47]; trotz wiederholtem Waschen sowohl mit H_2O , als auch mit Aethanol ist es schwierig, neutrales Raney-Ni zu erhalten. Seine schwache Basizität könnte der Grund für die Bildung von Phenylharnstoff (45) statt dem erwünschten Phenylbiuret (43) sein. Eine mögliche Bildungsweise ist in Schema 23 aufgezeichnet.

Um solch unerwünschte Nebenreaktionen vermeiden zu können, haben wir die Hydrogenolyse von 42 mit Raney-Ni in Aethanol unter Zusatz

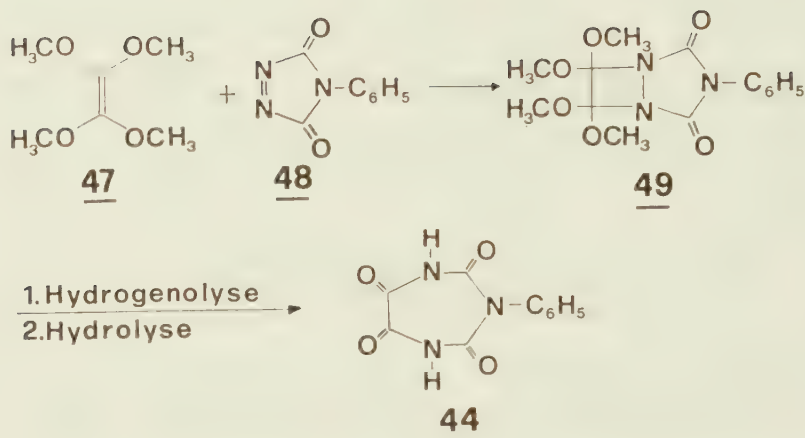


Schema 23: Mechanismus der Hydrogenolyse und Hydrolyse von **42** mit Raney-Ni in schwach basischem Milieu.

von Trifluoressigsäure ausgeführt. Das dabei isolierte Produkt konnte sowohl massenspektroskopisch wie auch durch eine Mikroanalyse eindeutig als die gesuchte Verbindung **43** identifiziert werden (Schema 21). Das ¹H-NMR.-Spektrum weist diesmal zusätzlich zu den 5 aromatischen Protonen noch 2 NH₂-Gruppen auf. Die anschließende Kondensation des Phenylbiuret **43** mit Oxalylchlorid lieferte zwar ein neues Produkt; es ist uns jedoch nicht gelungen, trotz einiger spektroskopischer Daten seine Struktur abzuleiten. Mit Sicherheit können wir nur sagen, dass es sich hier nicht um das gewünschte Tetraoxotriazepinderivat **44** handelt. Somit erwies sich der zu Anfang vielversprechende Weg über Phenylurazol **42** als nicht durchführbar.

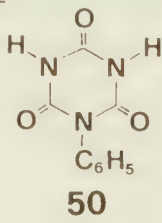
In Schema 24 ist eine weitere Syntheseveriante zur Herstellung des Phenyltetraoxotriazepins **44** dargestellt. Dabei sollte Tetramethoxyäthylen (**47**) mit dem "Superdienophil" **48** in einer [2+2]-Cycloaddition kondensiert werden. Der so gebildete Bicyclus **49** müsste nach der Hydrogenolyse der N-N-Bindung und der Hydrolyse der Methoxygruppen zu der gewünschten Modellverbindung **44** führen.

Tetramethoxyäthylen (**47**) wurde in mehreren Reaktionsstufen nach [48] hergestellt. Wegen seiner starken Hydrolyselabilität konnten wir zu seiner Charakterisierung nur ein ¹H-NMR.-Spektrum aufnehmen. Dieses wies nur ein Singulett bei 3,5ppm auf, was mit der Struktur **47**



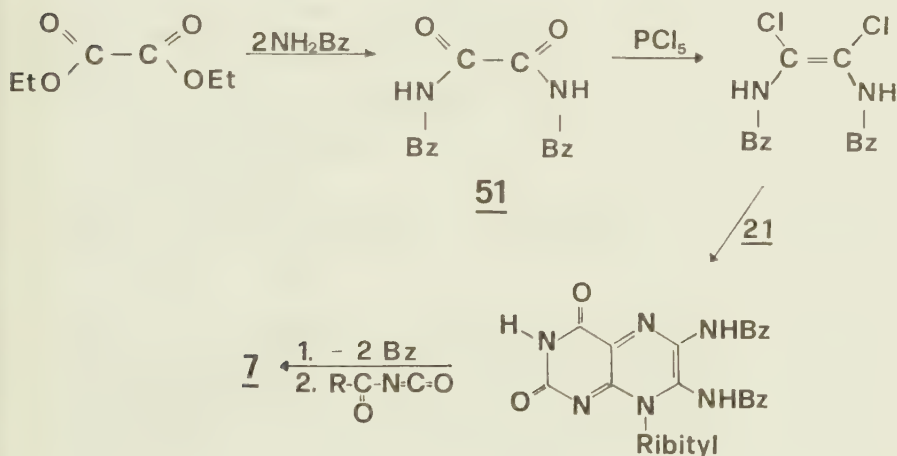
Schema 24: $[2+2]$ -Cycloaddition von 47 mit 48, mit anschliessender Hydrogenolyse und Hydrolyse zu 44.

übereinstimmt. Für die anschliessende $[2+2]$ -Cycloaddition legten wir die rote Lösung des Dienophils 48 in THF bei -78° vor und tropften langsam das ebenfalls im THF aufgenommene Tetramethoxyäthylen (47) zu. Die augenblicklich eingetretene Entfärbung der roten Lösung wies auf eine Reaktion der beiden Edukte hin. Von dem dabei isolierten Produkt wurde sowohl ein ^1H -NMR.- als auch ein ^{13}C -NMR.-Spektrum aufgenommen. Es ist uns jedoch nicht gelungen, anhand dieser Daten eine eindeutige Strukturzuordnung zu treffen. Trotzdem führten wir bei dem vorliegenden Produkt eine Hydrogenolyse mit Raney-Ni in Aethanol unter Zusatz von CF_3COOH durch. Das dabei gebildete neue Produkt konnte massenspektroskopisch eindeutig identifiziert werden. Es handelt sich um die Verbindung 50.



Da wir auf diesem Weg wiederum nicht zu der gesuchten Verbindung 44 gelangen konnten, verstärkte sich unsere Annahme, dass das gewünschte Tetraoxotriazepinderivat sehr labil sein müsste. In den bis jetzt besprochenen Reaktionen konnten wir jeweils neben nicht identifizierten, möglicherweise offenkettigen, Systemen nur die stabileren 5- resp. 6-Ring-Produkte isolieren. Deshalb wurden alle weiteren Versuche zur Synthese der Verbindung 40 oder zu einem ihrer Derivate aufgegeben.

Bei der nächsten Synthesever variante versuchten wir, zunächst ein mit geeigneten Schutzgruppen substituiertes 6,7-Diaminolumazinderivat herzustellen, das anschliessend nach Abspaltung der Schutzgruppen mit einem geeigneten Isocyanat zum gewünschten 7 reagieren sollte (Schema 25).

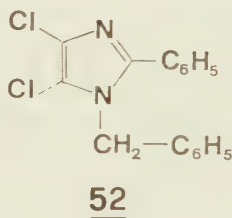


Schema 25: Synthesep lan für ein 6,7-Diaminolumazinderivat aus Dibenzoyloxalamid (51) und 5-Amino-4-D-ribitylamino-uracil (21).

Die Reaktion des Oxalsäurediäthylesters mit Benzylamin verlief ohne besondere Schwierigkeiten [49]. Das so gebildete Dibenzoyloxalamid (51) versetzten wir unter verschiedenen Reaktionsbedingungen mit POCl_3

und PCl_5 [50, 51] um; es ist uns jedoch nicht gelungen ein einheitliches Produkt zu isolieren. Erst bei der Reaktion von 51 und reinem PCl_5 in Schmelze erhielten wir nach der Aufarbeitung zwei Hauptprodukte. Beide konnten mit spektroskopischen Daten identifiziert werden. Das ^1H -NMR.-Spektrum des einen Produktes weist in der Aromatenregion ein Multiplett auf, welches 2 Phenylgruppen zugeordnet werden kann, darüber hinaus ein Singulett bei 5,2ppm, das von einer Methylengruppe stammt. Im ^{13}C -NMR.-Spektrum können wir neben den schon im ^1H -NMR. beobachteten aromatischen C-Atomen und der Methylengruppe drei weitere Singulette beobachten.

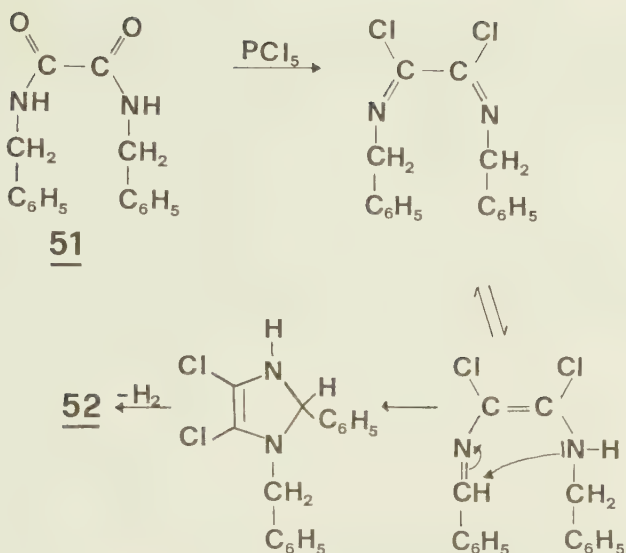
Anhand aller spektroskopischen Daten konnten wir dieser Verbindung Struktur 52 zuordnen.



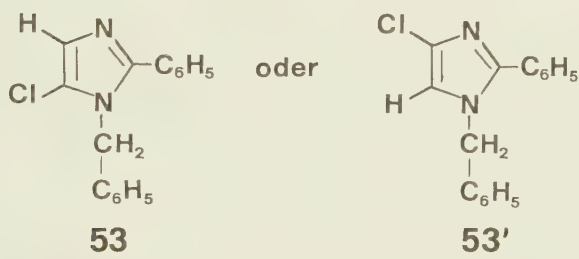
Im Schema 26 ist eine mögliche Bildungsweise für die Verbindung 52 aufgezeichnet.

Beim zweiten isolierten Produkt weist das ^1H -NMR.-Spektrum zusätzlich zu den Signalen bei Verbindung 52 in der Aromatenregion noch ein H-Atom auf. Das ^{13}C -NMR.-Spektrum stimmt ebenfalls praktisch mit demjenigen des ersten Produktes überein, lediglich finden wir hier statt den drei Singulettten nur deren zwei und ein zusätzliches Dublett. Laut Massenspektrum handelt es sich hier um ein Monochlor-derivat, das, wie schon das Dichlorid, nur die Abspaltung einer Benzylgruppe aufweist. Diesem Produkt können wir die Strukturen 53 resp. 53' zuordnen.

Mit den vorliegenden spektroskopischen Daten können wir nicht entscheiden, welche der beiden Strukturmöglichkeiten dem zweiten Produkt zugeordnet werden muss.

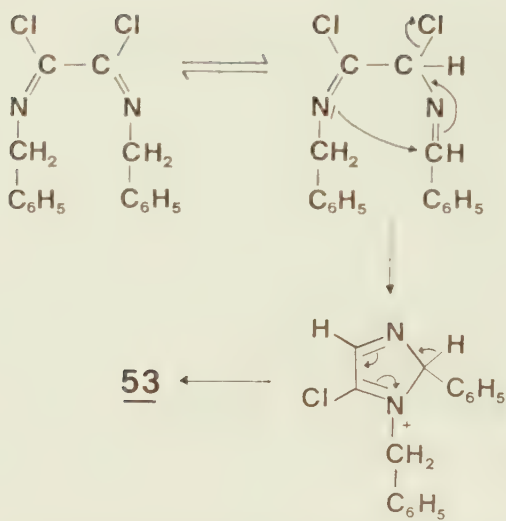


Schema 26: Eine mögliche Bildungsweise von 52 aus 51.



Anhand der im Schema 27 postulierten Bildungsweise können wir allerdings feststellen, dass nur die Bildung des Produktes 53 möglich ist.

Einen solchen Mechanismus konnten wir für eine sehr ähnliche Verbindung auch in der Literatur finden [51].



Schema 27: Eine mögliche Bildungsweise von 53.

IV. TABELLARISCHE ZUSAMMENSTELLUNG VON DATEN DER ISOLIERTEN RESP. SYNTHETISIERTEN RUS- SUPTERIDINE ODER DEREN ABBAUPRODUKTE

Numerierung der aufgeführten Russupteridine:

V-Compound (6-Methyl-7-oxo-8-D-ribityl-7, 8-dihydrolumazin)	<u>1</u>
Desmethyl-V-Compound (7-Oxo-8-D-ribityl-7, 8-dihydrolumazin)	<u>2</u>
Dioxoverbindung (6, 7-Dioxo-8-D-ribityl-5, 6, 7, 8-tetrahydrolumazin)	<u>4</u>
6-Amino-7-oxo-8-D-ribityl-7, 8-dihydrolumazin	<u>6</u>
R. P. gelb _I	<u>5</u>
R. P. gelb _{II}	<u>7</u>
R. P. gelb _{III} (Riboflavin)	<u>3</u>
R. P. gelb _{IV}	<u>14</u>
R. P. gelb _V	<u>54</u>

pK_S - und Rf-Werte:

Verbindung	pK _S	Rf-Werte			
		A ¹⁾	B ¹⁾	C ¹⁾	D ¹⁾
<u>1</u>	4,04±0,03 ²⁾ 12,87±0,1 2)	0,56	0,60	0,66	0,79
<u>2</u>		0,57	0,56	0,67	0,83
<u>4</u>		0,58	0,45	0,65	0,76
<u>6</u>		0,44	0,55	0,60	0,86
<u>5</u>	0,25 ³⁾ 4,8 3) 12,1 3)	0,38	0,32	0,44	0,53
<u>7</u>		0,29	0,23	0,31	0,56
<u>3</u>		4) -	0,84	4) -	0,66
<u>14</u>	2,97	0,23	0,22	0,33	0,61
<u>54</u>		0,23	0,39	0,41	0,66

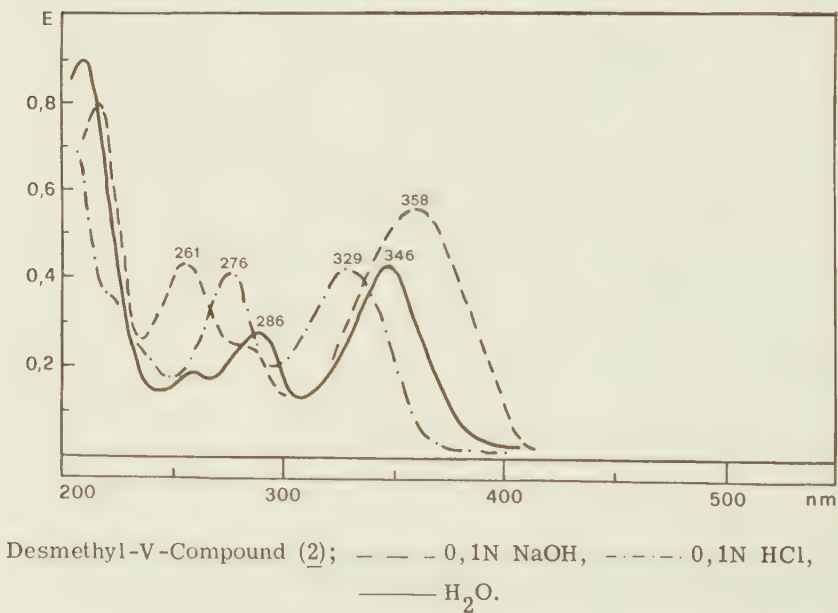
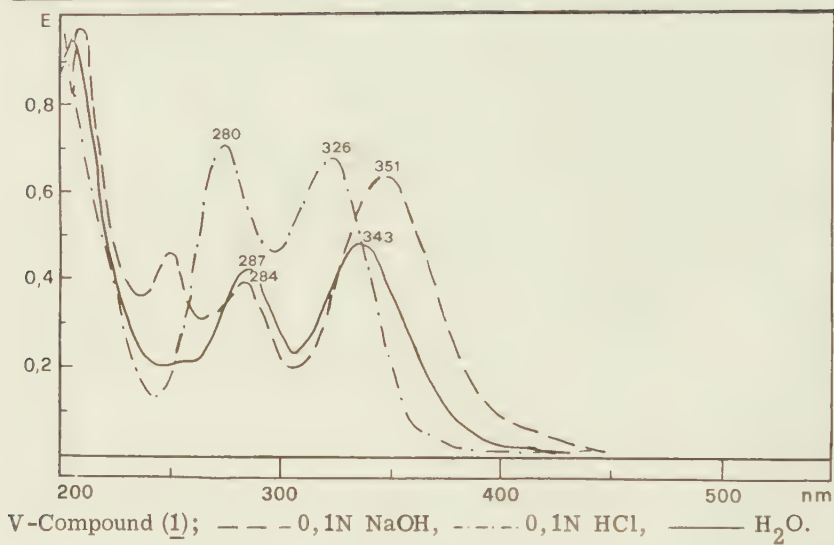
1) A: 4proz. Na-Citrat in Wasser; B: Butanol/Eisessig/Wasser (5:3:5);
C: 3proz. NH₄Cl in Wasser; D: 20proz. Essigsäure in Wasser (je Cel-
lulose DC).⁴

2) Lit. [33]

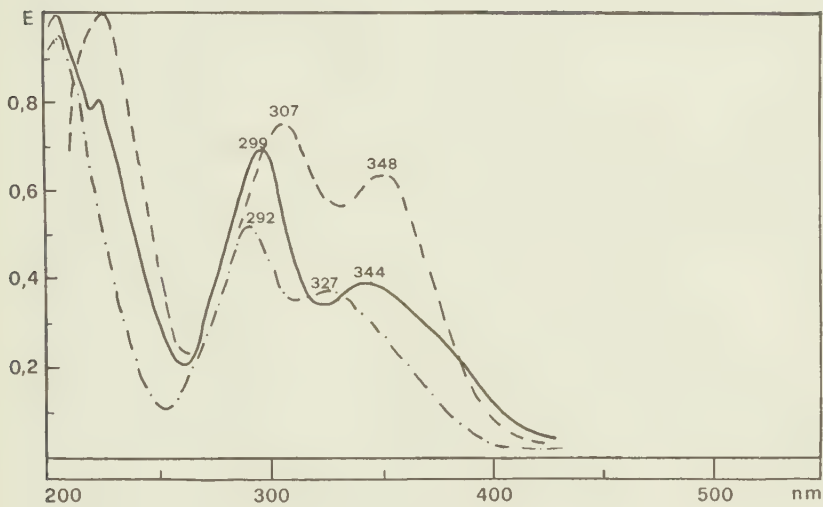
3) Lit. [19]

4) verschmiert, Rf-Wert nicht genau bestimmbar.

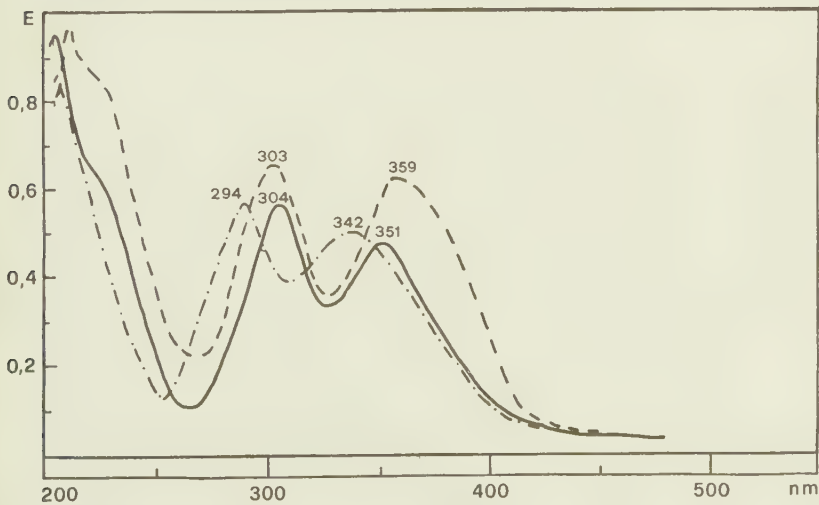
UV./VIS.-Spektren:



UV./VIS. -Spektren, Fortsetzung

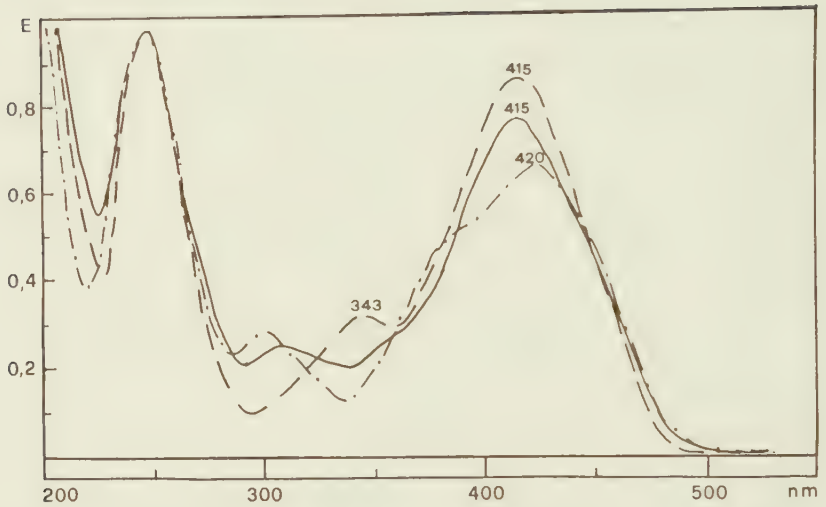


6,7-Dioxoverbindung 4; --- 0,1N NaOH, -.-.- 0,1N HCl, — H₂O.

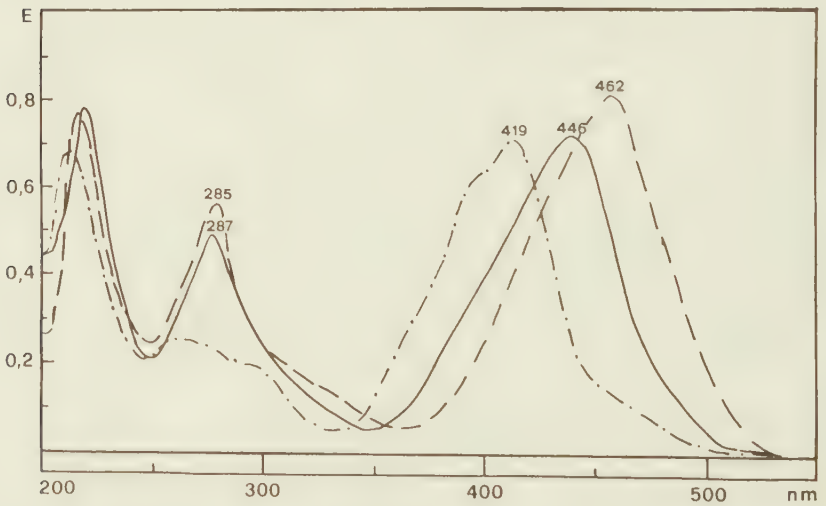


6-Aminoverbindung 6; --- 0,1N NaOH, -.-.- 0,1N HCl, — H₂O.

UV./VIS.-Spektren, Fortsetzung

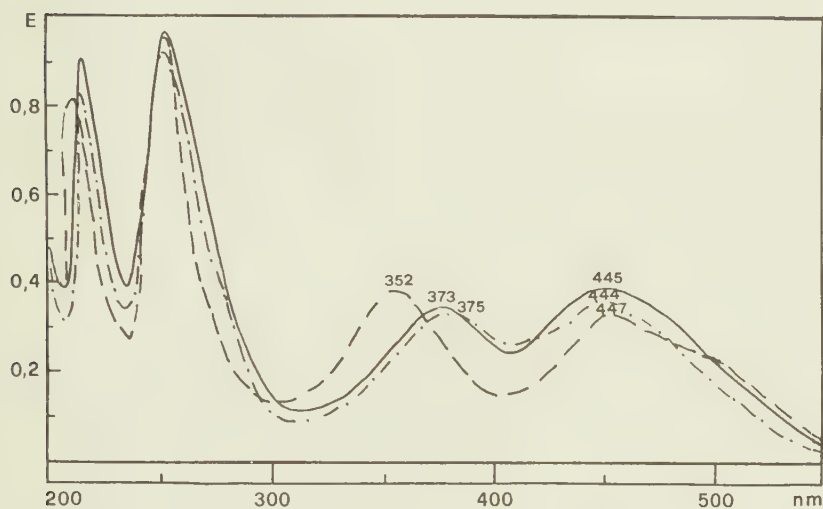


R. P. gelb_I (5); — — — 0,1N NaOH, - · - · - 0,1N HCl, — H₂O.

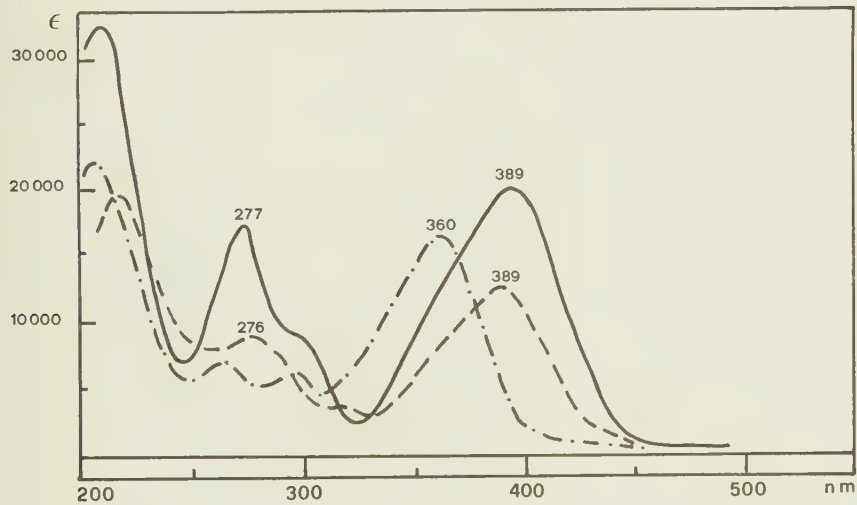


R. P. gelb_{II} (7); — — — 0,1N NaOH, - · - · - 0,1N HCl, — H₂O.

UV./VIS.-Spektren, Fortsetzung

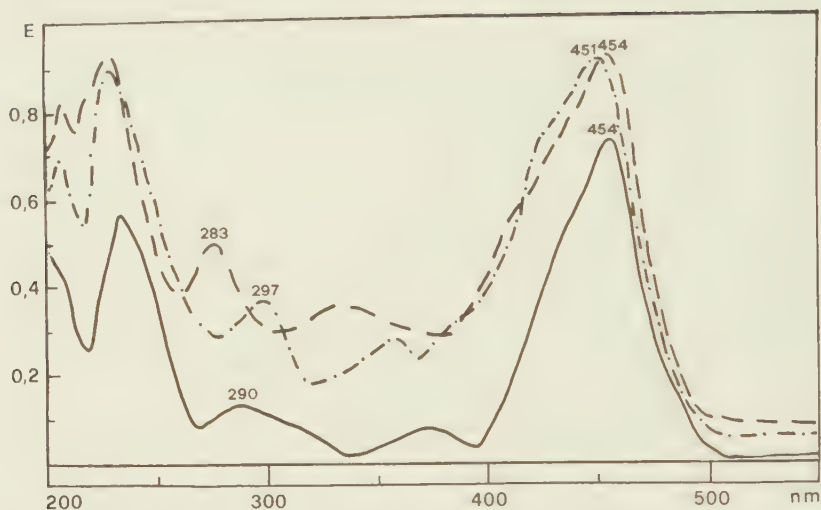


R. P. gelb_{III} (3); --- 0,1N NaOH, -.-.- 0,1N HCl, — H₂O.



R. P. gelb_{IV} (14); --- 0,1N NaOH, -.-.- 0,1N HCl, — H₂O.

UV./VIS.-Spektren, Fortsetzung



R. P. gelb_V (54); --- 0,1N NaOH, - - - 0,1N HCl, — H₂O.

¹H-NMR.-Daten (d₆-DMSO):

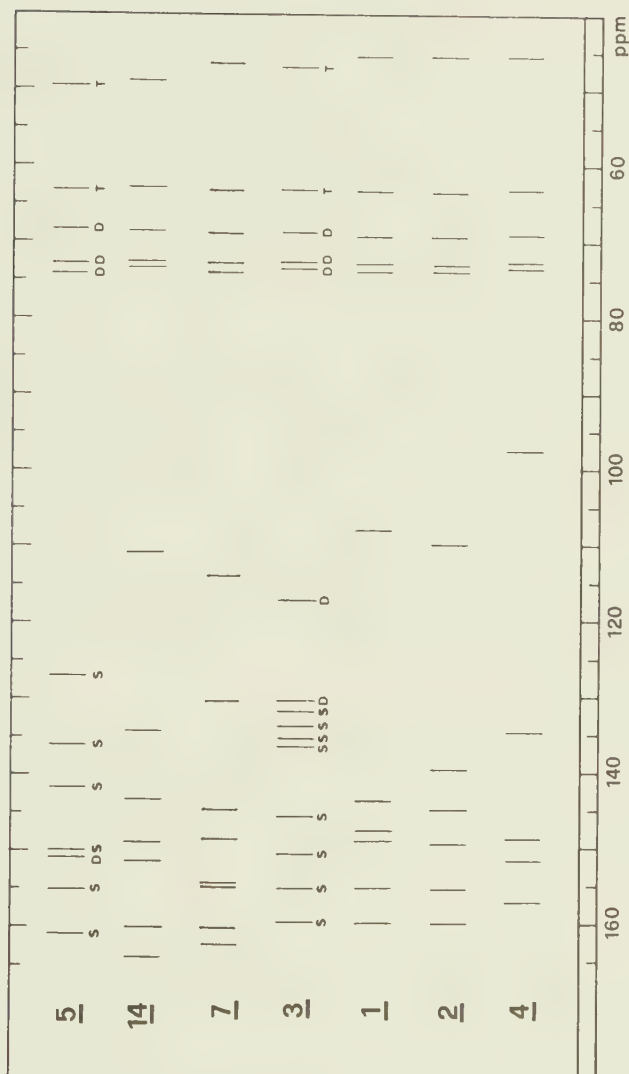
Verbindung	Ribitylrest		1 N-H-Proton
<u>1</u>	3, 8-4, 6	2, 3 (CH ₃ -C(6))	11, 39ppm ¹⁾
<u>2</u>	3, 3-4, 3	7, 6 (H-C(6))	11, 0ppm
<u>4</u>	3, 0-4, 4	11, 5 (2 N-H-Protonen)	
<u>6</u>	3, 5-4, 5	6, 45 (NH ₂ -C(6))	10, 8ppm
<u>5</u>	3, 2-5, 0	8, 85 (Formyl-H)	11, 9ppm ²⁾
<u>7</u>	3, 0-4, 4	10, 38 (1 N-H-Proton)	12, 22ppm ³⁾
<u>14</u>	3, 0-4, 8	11, 5 (2 N-H-Protonen)	
<u>3</u>	3, 4-5, 1	3, 3 (2 CH ₃ am Aromaten)	11, 3ppm
		7, 9 (2 arom. H)	

¹⁾ Lit. [40]

²⁾ Lit. [2]

³⁾ Lit. [19]

^{13}C -NMR.-Spektren (d_6 -DMSO):¹⁾



1) ^{13}C -NMR.-Tabelle mit kleinen Änderungen von [2] übernommen.

V. UEBERLEGUNGEN ZUR BIOGENESE DER NEUEN VERBINDUNGEN

Die strukturelle Aehnlichkeit der Pteridine mit den Purinen weist auf mögliche biogenetische Zusammenhänge hin. Diesbezügliche Untersuchungen wurden von mehreren Autoren schon vor längerer Zeit durchgeführt [52]. Den ersten Beweis für die Umwandlung von Purinen in Pteridine konnte 1961 McNutt [53] liefern durch Einbau von sowohl ^{15}N -markiertem Adenin als auch ^{14}C - und ^{15}N -markiertem Xanthin in entsprechend markiertes Riboflavin in Eremothecium ashbyii.

Demgegenüber gelang es Bacher und Mailänder [54] zu beweisen, dass in Aerobacter aerogenes nicht Xanthin, sondern Guanin der Vorläufer der Lumazine ist. Mit einer Mutante von Aerobacter aerogenes gelang ihnen ohne Verdünnung die Umwandlung von $[2\text{-}^{14}\text{C}]$ -Guanin in Riboflavin. Diese Mutante kann weder Purine de novo synthetisieren, noch Guanosinmonophosphat (GMP) in Xanthosinmonophosphat (XMP) umwandeln. Das für die Bildung von Riboflavin spezifische Enzym, die GTP-Cyclohydrolase, konnte vorläufig nur aus Mikroorganismen isoliert werden [55].

Laut Schema 28 wird bei Guanosin-triphosphat (55) zunächst C(8) in Form von Ameisensäure abgespalten, wobei das 4,5-Diaminoderivat 56 gebildet wird. 56 kann nun auf zwei verschiedenen Wegen zu Pterinen resp. Lumazinen weiterreagieren.

Durch intramolekulare Kondensation der C(5)-Aminogruppe mit der Carbonylgruppe des Amadoriumlagerungsproduktes wird 7,8-Dihydro-neopterin gebildet, welches ein Zwischenprodukt der Folsäurebiogenese ist [55-59].

Anstelle einer Amadoriumlagerung kann aus dem D-Ribosyltriphosphatrest eine D-Ribitylgruppe gebildet werden und die 2-Aminogruppe des Pyrimidinringes durch Desaminierung in eine Oxogruppe umgewandelt



Schema 28: Biogenese von Pterinen und Lumazinen aus Purinen.

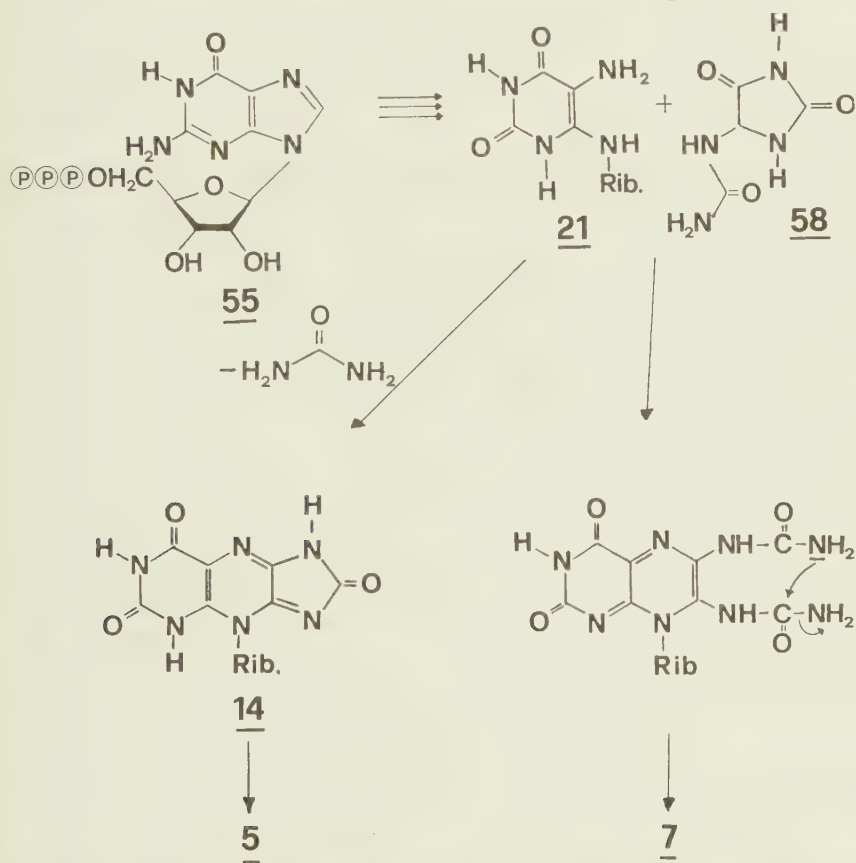
werden; somit entsteht das 5-Amino-4-D-ribitylaminouracil (21), welches seinerseits mit einer Dicarbonyleinheit zu den bekannten, farblosen, im UV-Licht intensiv fluoreszierenden Lumazinen wie z.B. V-Compound (1), Desmethyl-V-Compound (2), Dioxoverbindung (4) und der G-Compound (57) kondensiert wird [60-64]. Der Ursprung solcher Dicarbonyleinheiten ist noch nicht restlos geklärt. Goodwin und Treble [63] gelang es lediglich, aus Eremothecium ashbyii nach Zugabe von $[2-^{14}\text{C}]$ -acetylmethylcarbinol ($[2-^{14}\text{C}]$ -Acetoin) im aromatischen Ring markiertes Riboflavin zu isolieren. Sie fanden die Markierung am C(5)- und C(8)-Atom wieder. Sie postulierten schon 1958, dass Acetoin zunächst mit dem Diaminouracil 21 zu der G-Compound (57) reagiert, die ihrerseits der Vorläufer von Riboflavin (3) sein müsse. Diese Hypothese wurde von Plaut und Beach [6] bestätigt. Durch Kondensation von 2 Molekülen G-Compound wird ein Molekül Riboflavin (3) und ein Molekül 21 gebildet. Dies zeigten sie, indem sie 6-Deuterio-7-methyl-8-D-ribityllumazin mit Hilfe der isolierten Riboflavinsynthetase, die in einer Reihe von Mikroorganismen und Pflanzen vorhanden ist, in Riboflavin mit an C(7) deuterierter Methylgruppe umwandelten. Aus diesen Experimenten konnten sie einen detaillierten Bildungsmechanismus für Riboflavin (3) ableiten.

Nebst Riboflavin wurde auch die Biogenese der V-Compound (1) untersucht. Zunächst wurde angenommen [60], dass V-Compound (1) durch Kondensation von 21 mit Brenztraubensäure gebildet werde. Etwas später haben die gleichen Autoren jedoch die Hypothese aufgestellt, dass V-Compound ein Oxydationsprodukt der G-Compound (57) sei und demzufolge parallel zu Riboflavin (3) gebildet werde [62].

Analoge ausführliche Biogeneseuntersuchungen liegen für die von uns isolierten 6,7-Diamino-8-D-ribityllumazinderivate nicht vor. Wir können jedoch versuchen, anhand der oben beschriebenen Befunde auch in unserem Fall einen Biogenesevorschlag aufzustellen.

Es ist naheliegend, wiederum Guanosintriphosphat (55) als Vorläufer

zu postulieren, das analog Schema 28 zu 5-Amino-4-D-ribitylamino-uracil (21) abgebaut wird. Als Kondensationspartner könnte Allantoin (58) in Betracht gezogen werden (Schema 29). Anschliessend kann entweder durch Oeffnen des Imidazolringes, gefolgt von einem Ringschluss zu einem Triazepinring die von uns postulierte Verbindung 7 gebildet werden, oder durch Abspaltung eines Harnstoffmoleküls direkt R.P. gelb_{IV} (14) entstehen. Durch anschliessende Reduktion der Carbonylgruppe des Imidazolnringes gelangen wir zu R.P. gelb_I (5).



Schema 29: Biogenesevorschlag für R.P. gelb_{II} (7), R.P. gelb_I (5) und R.P. gelb_{IV} (14) aus Guanosin (55).

Allantoin (58) wird als Zwischenprodukt beim Abbau von Harnsäure resp. von Urat (einfach deprotonierte Harnsäure) mit der Uratoxidase (Uricase) unter Oeffnung des Pyrimidinrings gebildet [65]. Wobei Harnsäure ihrerseits aus Purinderivaten wie z.B. Xanthin gebildet wird [66].

VI. VERDANKUNGEN

Ich danke herzlichst allen, die mich in meiner Arbeit unterstützt haben, insbesondere

Herrn Prof. W. Pfeleiderer und seinen Mitarbeitern von der Universität Konstanz für die Aufnahme von Massenspektren und für die spektroskopische pKs-Bestimmung,

Herrn Dr. P.X. Iten für zahlreiche Diskussionen und Anregungen, sowie für die freundliche Ueberlassung spektraler Daten von R.P.gelb_I und R.P.gelb_{II},

Herrn Prof. W.von Philipsborn und seinen Mitarbeitern, insbesondere Herrn Dr. W. Schwotzer und Herrn E. Vonbank für NMR.-Spektren,

Herrn Dr. P. Scrabal vom Organisch-Chemischen Institut der ETH Zürich für ein ¹³C-NMR.-Spektrum von R.P.gelb_{IV},

Herrn Dr. Schulten von der Universität Bonn für ein FD.-Spektrum von R.P.gelb_{IV},

Herrn H. Frohofer und seinen Mitarbeitern für die Ausführung von Mikroanalysen und IR.-Spektren,

Herrn Prof. M. Hesse und seinen Mitarbeitern für die Messung der MS.-Spektren,

Herrn Dr. Niklaus und Herrn Loosli von der Sandoz in Basel für ein ¹H-NMR.-Spektrum von R.P.gelb_{IV},

Frau H. Bild für die sorgfältige Reinschrift dieser Arbeit.

VII. EXPERIMENTELLER TEIL

1. Allgemeines

SPEKTREN: CD.: Roussel-Jouan Dichrograph II, Modell 185 und Jasco J 500-C. UV./VIS.: Beckman Acta III und Perkin Elmer 552 Spektrometer. Fluoreszenz: Fluoreszenzspektrometer A. Meier, Physikalisch-Chemisches Institut der Universität Zürich, Eigenproduktion. IR.: Perkin-Elmer-Spektrometer Modell 257 (NaCl-Optik). ^1H -NMR.: Varian T 60 MHz., Varian HA 100 MHz., XL 100 MHz., XL 200 MHz. (beide mit Puls Fourier-Transformeinheit) und Brucker 90 MHz.-Spektrometer. ^{13}C -NMR.: Varian XL 100 (25,2 MHz.) und Brucker (22,63 MHz.) Spektrometer. MS.: CEC Typ 21-110 B, Varian MAT 711 und Varian CH 7 Spektrometer.

SPEKTRALDATEN: CD. (Lösungsmittel): λ_{max} , nm ($\Delta\epsilon$) (bei quantitativer Messung), ($\Delta\epsilon$) (bei qualitativer Messung). UV., VIS. (Lösungsmittel) λ_{max} , λ_{min} , nm (ϵ) (bei quantitativer Messung), (ϵ) (bei qualitativer Messung); Sch. = Schulter. Fluoreszenz (Lösungsmittel): λ_{max} , nm (Emission). IR. (Lösungsmittel): Hauptbanden in cm^{-1} (s = stark, m = mittel, w = schwach, br. = breit). ^1H -NMR. (Lösungsmittel) (Messfrequenz): δ -Werte in ppm, relativ zu internem resp. externem Tetramethylsilan (Multiplizität: s = Singulett, d = Dublett, m = Multiplett, br. = breit; Kopplungskonstante J in Hz., Anzahl Protonen, Zuordnung). ^{13}C -NMR. (Lösungsmittel) Messfrequenz: δ -Werte in ppm, relativ zu Tetramethylsilan (Multiplizität: s = Singulett, d = Dublett, Zuordnung). MS.: m/z (relative Intensität in % oder s = stark, m = mittel, w = schwach).

ISOELEKTRISCHE FOKUSSIERUNG: Durchgeführt am LKB 7900 UNIPHOR der LKB-Producer. Eine wässrige Lösung der Substanz mit einem pH-Saccharose-Gradienten (Ampholin pH 3,5 bis 10,0) wurde in die Säule eingefüllt. Endspannung 950 V, Endstrom ca. 5 mA, Laufzeit 72 Stunden. Der Säuleninhalt wurde vorsichtig abgelassen und der pH-Wert der Zone

mit der Substanz mit Glaselektrode und Polymetron pH-Meter Typ 5101 gemessen.

HOCHSPANNUNGSELEKTROPHORESE: Durchgeführt mit CAMAG HVE System, Laufpapier Whatman Nr. 1, NaAc/HAc Puffer: pH 3,5; 4,6; 2,0.

CHROMATOGRAPHIE: Für die Säulenchromatographie wurden folgende Materialien verwendet: Sephadex G 25, G 15, Sephadex CM C 25 und Sephadex LH 20 der Firma PHARMACIA (Uppsala, Schweden); Whatman CF 11 Cellulosepulver und mikrogranulare Cellulose CC 31; DEAE-SS-Cellulose von SERVA, Heidelberg; Ionenaustauscher Amberlite CG 400 und Dowex 50 W x 12.

Zur analytischen Dünnschichtchromatographie wurden Fertigfolien der Firma MACHEREY & NAGEL verwendet (CEL 300/UV₂₅₄ und SIL N-HR/UV₂₅₄). Für präparative Schichtchromatographie wurde Kieselgel PF₂₅₄ der Firma Merck benützt (je 25 g auf Platten von 20x20cm). Als UV.-Detektor wurde ein LKB UVICORD II, Typ 8301 A verwendet.

Essigsäure wurde entweder selbst über CrO₃ destilliert oder nur p.a. verwendet. Das verwendete Wasser wurde entionisiert und anschliessend in einer Pyrexglasapparatur destilliert.

SCHMELZPUNKTE (Smp.): Wurden auf einem Apparat "Tottoli" (Büchi, Flawil) gemessen und sind unkorrigiert.

Silylierungen wurden in abs. Pyridin mit Bis-N,O-(trimethylsilyl)-trifluoracetamid bei 50° ausgeführt.

Verwendete Abkürzungen:

R. P.	= Russupteridin
DC	= Dünnschichtchromatographie
d ₆ -DMSO	= Hexadeuteriodimethylsulfoxid
DME	= Dimethoxyäthan

R. T.	= Raumtemperatur
HV	= Hochvakuum
proz.	= prozentig
Rib.	= Ribityl
R.	= Russula
S.	= Seite
vgl.	= vergleiche
Bz.	= Benzyl

2. Isolierung von R. P. gelb_{IV} (14).

Der aus 300 kg R. sardonica erhaltene Extrakt wurde zunächst an Sephadex G 25 grob aufgetrennt [2, 37]. Der so erhaltene Rohextrakt (20 l) wurde parallel auf zwei nassgefüllten Cellulosesäulen (1. Säule: 49x5cm, Aufnahmekapazität pro Durchlauf 600 ml Extrakt, Eluierungsmittel 1proz. HAc; 2. Säule 46x10cm, Aufnahmekapazität pro Durchlauf 1000 ml Extrakt, Eluierungsmittel 1proz. HAc) vorgereinigt. Die nächste Chromatographie wurde an einer Sephadex G 15-Säule (nassgefüllt, 73x5,5cm, Eluierungsmittel 1proz. HAc) durchgeführt. Das hoch angereicherte R. P. gelb_{IV} wurde zur Schlussreinigung an einer Sephadex CM C 25-Säule (nassgefüllt, 43x5cm, Eluierungsmittel 5proz. HAc, Temperatur 20⁰ (Thermostat)) chromatographiert (Schema 4), dann aus H₂O umkristallisiert und am HV 2 Tage über P₂O₅ bei 45⁰ getrocknet; Ausbeute 25 mg; Schmelzpunkt >300⁰.

3. Charakterisierung des isolierten R.P.gelb IV (14).

Rf - Werte: (Cellulose DC)	0,23 (4proz. Na-Citrat), 0,22 (Butanol/HAc/ H ₂ O 5:3:5), 0,61 (20proz. HAc), 0,85 (2-Pro- panol/1proz. NH ₃ 4:1), 0,33 (4proz. NH ₄ Cl).
Papierelektro- phorese:	500 V, 45-50 mA, 35 Min. 4,7 cm anodisch Acetattuffer pH 3,5 400 V, 130-150 mA, 45 Min. 8,2 cm anodisch Acetattuffer pH 4,6 500 V, 60 mA, 45 Min. 1,3 cm anodisch Essigsäure pH 2,0
Isoelektrische Fokussierung:	pH-Saccharose-Gradient (Ampholin pH 3,5 bis 10,0) U = 950 V; I = 5 mA; 72 Stunden; pI-Wert: 1,8.
pKs-Wert:	2,97 ± 0,09 (Spektrometrisch bestimmt siehe Abschnitt III.2.2.)
CD. (H ₂ O):	245 (-0,96), 270 (0), 300 (+0,50).
UV./VIS. (0,1N HCl)	Max: 360 (16660), 296 (5650), 263 (6910), 212 (22280). Min: 311 (4350), 280 (5290), 249 (5720).
(0,1N NaOH)	Max: 389 (12590), 310 Sch. (4140), 276 (8340), 220 (19200). Min: 330 (3030), 263 (7610).
(H ₂ O)	Max: 389 (20770), 296 Sch. (8820), 277 (17440), 219 (33090). Min: 320 (2170), 249 (6710).

IR. (KBr): 3420 br., 3220 br., 1765 w, 1705 s, 1645 m, 1600 s, 1545 m, 1500 m, 1475 w, 1405 w, 1380 m, 1350 w, 1260 w, 960 w, 870 w, 710 w.

$^1\text{H-NMR}$. (d_6 -DMSO): 3,0-3,8 (m, $\text{CH}_2(1')$, $\text{CH}_2(5')$ und H_2O); 4,0-4,2 (m, $\text{H-C}(2')$); 4,4-4,8 (m, $\text{H-C}(3')$ und $\text{H-C}(4')$); 11,5 (br., 2 N-H-Protonen).

$^{13}\text{C-NMR}$. $^1(\text{d}_6\text{-DMSO})$: 48,52 ($\text{C}(1')$); 62,31 ($\text{C}(5')$); 68,05 ($\text{C}(2')$); 72,21 und 72,91 ($\text{C}(3')$ und $\text{C}(4')$); 110,47, 139,19, 143,17, 148,91, 151,39, 159,96 und 163,94 (6 C-Atome des Lumazingerüsts und Carbonyl-C-Atom des Imidazolonrings).

MS. m/z: unsilyliert 355 (M^+ , m), 341 (m), 327 (m), 281 (s), 267 (m), 265 (w), 242 (m), 220 (m), 207 (s), 191 (s), 177 (s).

silyliert 859 (M^+ , w), 844 (m), 770 (w), 755 (w), 679 (s), 665 (m), 653 (s), 551 (s), 508 (s).

$\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_6\text{O}_7 \times 1,5 \text{ Mol } \text{H}_2\text{O}$ Ber. C 37,80 H 4,50 N 22,04%
(354,26 + 27,03) Gef. C 37,30 H 4,38 N 20,90%

4. Synthesen von Modellsubstanzen für R.P.gelb_{IV} (14).

4.1. Verbindung 16 bzw. 16' durch Kondensation von o-Phenylendiamin mit Parabansäure (15) in Eisessig.

2 g Parabansäure (MG 114; 17,5 mMol) (hergestellt nach [39]) wurden mit 1,9 g o-Phenylendiamin (MG 108; 17,5 mMol) in 40 ml Eisessig gelöst und während 5 Std. unter Rückfluss gekocht. Die Lösung färbte sich schon nach kurzer Zeit dunkelbraun, gegen Ende der Reaktions-

¹⁾ Da wir bei 14 kein protonenunentkoppeltes $^{13}\text{C-NMR}$. -Spektrum erhalten konnten, wurde die angegebene Zuordnung der C-Atome anhand [2] durchgeführt.

zeit bildete sich ein weisser Niederschlag. Dieser wurde abfiltriert und mit Aethanol nachgewaschen. Nach dem Umkristallisieren aus Aethanol und Trocknen am HV wurden 710 mg 16 (resp. 16') (3,5 mMol; 20%) erhalten.

Rf-Werte: 0,6 (20proz. HAc), 0,0 (4proz. Na-Citrat).
(Cellulose DC)

UV./VIS. (95% Aethanol) qualitativ Max.: 300 (0,955), 254 (0,196), 237 Sch.
(0,751), 233 (0,811), 212 (0,900).
Min.: 257 (0,173), 245 (0,160), 223 (0,633).

IR. (KBr): 3420 s, 3370 s, 3320 s, 3180 s, 1720 s, 1690 s,
1605 s, 1535 m, 1490 m, 1450 s, 1415 s,
1320 s, 1280 m, 1235 m, 1230 s, 1170 s,
1140 s, 1100 s, 1015 s, 995 m, 950 m,
885 w, 770 m, 750 m, 730 s.

^{13}C -NMR. (d_6 -DMSO): 112,9 d, 120,4 d, 123,2 d, 125,1 d (4-C-Atom
des Benzolkerns); 135,0 s, 142,2 s, 143,8 s,
152,2 s, 158,6 s.

MS. m/z: 204 (M^+ , 21), 188 (14), 187 (24), 186 (13),
161 (81), 144 (62), 118 (100), 91 (38), 90 (33),
64 (33), 63 (29), 43 (45).

$\text{C}_9\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_2$ Ber. C 52,95 H 3,94 N 27,44%
(204,17) Gef. C 53,34 H 4,29 N 27,83%

4.2. Verbindungen 17 und 18 durch Kondensation von o-Phenylendiamin mit Parabansäure (15) in Glykol.

1 g Parabansäure (MG 114; 8,75 mMol) wurde in 200 ml Aethylenglykol mit 1 g o-Phenylendiamin (MG 108; 8,76 mMol) und 100 mg p-Toluolsulfonsäure als Katalysator versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde während 1,5 Std. bei 12 Torr (Wasserstrahlvakuum) auf 100° erwärmt.

Die beim Abkühlen gebildeten Kristalle wurden abfiltriert und aus Aethanol umkristallisiert. Durch selektive Auskristallisation konnten zwei Produkte isoliert werden.

1. Produkt: Verbindung 17; Ausbeute 220 mg (11,8 mMol; 13,6%).

Rf-Wert: 0,68 (20proz. HAc)
(Cellulose DC)

UV./VIS. (95proz. Aethanol) Max.: 347 (4685), 332 (7654), 319 (6906),
217 (14645).

Min.: 343 (4512), 324 (6543), 265 (2370).

IR. (KBr): 3340 m, 3230 w, 3180 w, 2900 w, 2850 w,
1720 m, 1665 s, 1620 w, 1580 m, 1500 m,
1470 m, 1390 s, 1300 w, 1210 m, 1140 w,
960 w, 760 m.

¹H-NMR. (d₆-DMSO): 7,3 (m, 4 Aromatenprotonen); 8,3 (br.,
60 MHz. 2 N-H-Protonen).

MS. m/z: 186 (M⁺, 22), 160 (100), 133 (24), 132 (52),
105 (22), 104 (27), 43 (22).

C₉H₆N₄O x 1 Mol H₂O Ber. C 52,95 H 3,94 N 27,44%
(186,17 + 18,1) Gef. C 53,33 H 4,50 N 27,35%

2. Produkt: Verbindung 18; Ausbeute 90 mg (5,6 mMol; 6,4%).

Rf-Wert: 0,25 (Aceton/CHCl₃ 10:1)
(Kieselgel DC)

UV./VIS. (95proz. Aethanol) qualitativ Max.: 322 Sch. (0,474), 310 (0,559), 300 Sch.
(0,465), 262 (0,213), 228 Sch. (0,480),
212 (1,018).

Min.: 278 (0,193), 251 (0,211).

MS. m/z: 162 (M⁺, 100), 134 (61), 106 (67), 79 (44),
48 (39).

4. 3. Kondensation von 5-Amino-4-methylaminouracil (19) mit Paraban-säure (15) in Glykol.

Ausgangsmaterial für 5-Amino-4-methylaminouracil (19) war Trichlorpyrimidin, das nach [67] zunächst in $\text{NaOH}_{\text{aq.}}$ zu 4-Chlor-uracil umgesetzt wurde. Die anschliessende Nitrierung zu 4-Chlor-5-nitrouracil wurde nach [68] ausgeführt. Die nachfolgende Umsetzung mit Methylamin erfolgte mit kleinen Abänderungen nach [67]:

8,76 g 4-Chlor-5-nitrouracil (MG 191,5; 45,8 mMol) wurden in 438 ml Aethanol gelöst und unter Rühren bei R.T. mit 33proz. aethanolischer Lösung von Methylamin (13,15 g) versetzt. Nach einer Stunde Rühren bei 50° wurde das Reaktionsgemisch mit 440 ml H_2O verdünnt und mit NaAc und NH_3 schwach basisch gemacht. Der gebildete Niederschlag wurde zusammen mit der überstehenden Lösung auf eine Ionenaustauschersäule (Amberlite CG 400, Acetat-Form) aufgetragen. Nachdem zunächst mit 1,5 l H_2O die Salze desorbiert wurden, konnte das gesuchte Produkt mit 5proz. Essigsäure eluiert werden. Das Eluat wurde eingedampft, der Rückstand in verdünnter Pyridinlösung aufgenommen und der nicht lösliche Teil abfiltriert. Das Filtrat wurde mit Eisessig versetzt und die ausgefallenen Kristalle abgenutscht und getrocknet. Die Ausbeute betrug 6,56 g (35,2 mMol, 77%) 4-Methylamino-5-nitrouracil. 250 mg 4-Methylamino-5-nitrouracil (MG 186,13; 1,3 mMol) wurden in 20 ml H_2O mit 100 mg PtO_2 während 5 Std. bei R.T. und Normaldruck hydriert; es wurden 96 ml H_2 aufgenommen. Nachdem der Katalysator über Celite abfiltriert worden war, wurde das Filtrat bis zur Trockene eingedampft und der Rückstand in 80 ml Aethylenglykol aufgenommen. Nach Zugabe von 145 mg Parabansäure (MG 114; 1,3 mMol) und 20 mg p-Toluolsulfonsäure als Katalysator wurde das Reaktionsgemisch während 1,5 Std. bei 12 Torr (Wasserstrahlvakuum) auf 108° erwärmt. Der beim Abkühlen gebildete Niederschlag erwies sich dünnschichtchromatographisch als Gemisch. Die Chromatographie an Sephadex G 15 (60x7cm) mit Wasser als Eluierungsmittel lieferte die Verbindung 20. Da es sich hier nur um eine sehr kleine Substanzmenge handelte,

konnte die Ausbeute nicht bestimmt werden.

Rf - Wert: 0,44 (20proz. HAc)

(Cellulose DC)

Fluoreszenz (H_2O): 468 nm

UV./VIS. (0,1N HCl) Max.: 360 (0,438), 287 Sch. (0,153), 260
(0,200), 207 (0,791).

Min. : 308 (0,114), 248 (0,180).

(0,1N NaOH) Max.: 389 (0,762), 308 Sch. (0,282), 278
(0,533), 221 (1,266).

Min. : 330 (0,184), 265 (0,498).

(H_2O) Max.: 389 (0,817), 295 Sch. (0,350), 274
(0,694), 216 (1,460).

Min. : 316 (0,078), 248 (0,333).

IR. (KBr): 3400 br., 3210 br., 2940 m, 1710 w, 1630 s,
1590 s, 1500 s, 1390 s, 1310 m, 1190 w,
980 w, 875 w, 790 w.

5. Synthese von R.P.gelb_{IV} (14).

Das für die Kondensation benötigte 5-Amino-4-D-ribitylaminouracil wurde wie folgt hergestellt (Schema 8):

11 g $NH_2OH.HCl$ wurden nach [69] mit 14 g D-Ribose (MG 150; 90 mMol) umgesetzt. Die Ausbeute an isoliertem D-Riboseoxim betrug 10,2 g (69%, 6,06 mMol), Smp. $139,5^{\circ}$ (Lit. 141°).

7 g D-Riboseoxim (MG 165,14; 42 mMol) wurden in 400 ml Eisessig mit 250 mg PtO_2 bei R.T. und Normaldruck hydriert [28]; aufgenommen wurden 1800 ml H_2 . Nach dem Filtrieren des Katalysators über Celite wurde das Filtrat vorsichtig zu einem Sirup eingedampft. Anschliessend wurde der Rückstand mit 100 ml H_2O verdünnt und die essigsäure Lösung mit Na_2CO_3 alkalisch gemacht. Unter kräftigem Rühren mit einem Magnetrührer und einem Vibromischer wurden bei

R.T. langsam 12 g Carbobenzyloxychlorid (MG 170,6; 70,6 mMol) zugeotropft. Anschliessend wurde das Reaktionsgemisch über Nacht bei R.T. gerührt, dabei bildete sich ein weisser Niederschlag. Nach der Neutralisation der basischen Lösung mit 0,1N HCl konnte das Produkt mit Essigester extrahiert werden. Nach dem Umkristallisieren aus Essigester betrug die Ausbeute 4,5 g (15,8 mMol; 37%) Carbobenzyloxy-D-ribitylamin (bezogen auf D-Riboseoxim), Smp. 114°.

$C_{13}H_{16}NO_6$
(285,34)

Ber. C 54,72 H 6,73 N 4,91%

Gef. C 54,84 H 6,78 N 5,17%

Die anschliessende Hydrogenolyse von 1,7 g Carbobenzyloxy-D-ribitylamin (MG 285; 6 mMol) in 40 ml Methanol (p.a.) und 2 Äquivalenten trockener methanolischer HCl mit 120 mg Pd/5% C nach [70] wurde in einem Rosenmundreduktor ausgeführt. Der Reaktionsablauf konnte durch Kontrolle der CO_2 -Entwicklung mit $Ba(OH)_2$ verfolgt werden. Nach 45 Min. war die Hydrogenolyse beendet, und der Katalysator wurde mit der Fritte im Rosenmundreduktor abfiltriert und das Filtrat auf den Ionenaustauscher Amberlite CG 400 (OH^- -Form) (12x2cm) aufgetragen. Die basische Fraktion mit dem labilen D-Ribitylamin wurde direkt zu einer Lösung von 600 mg 4-Chlor-5-nitrouracil (Herstellung siehe Abschnitt VII.4.3.) in 40 ml MeOH zugeotropft. Nach kurzer Reaktionszeit bei R.T. bildete sich ein weisser Niederschlag. Nach 4 Std. wurde das Reaktionsgemisch mit NH_4Ac und NH_3 schwach basisch gemacht und auf den Ionenaustauscher Amberlite CG 400 (Ac^- -Form) (23x2cm) aufgetragen. Mit ca. 500 ml H_2O wurden zuerst die Salze eluiert. Anschliessend wurde mit 10proz. HAc das gewünschte Produkt desorbiert. Der Verlauf der Chromatographie wurde spektroskopisch bei λ_{254} nm (Uvicord) verfolgt. Nach Umkristallisation aus H_2O betrug die Ausbeute 620 mg 5-Nitro-4-D-ribitylaminouracil (20,3 mMol; 34%, bezogen auf Carbobenzyloxy-D-ribitylamin). Wegen der recht heiklen Hydrogenolyse musste diese Stufe jeweils mit wenig Ausgangsmaterial mehrmals wiederholt werden.

$C_9H_{14}N_4O_8 \times 1/2 \text{ Mol } H_2O$	Ber.	C 34,27	H 4,81	N 17,76%
(306,28 + 9,01)	Gef.	C 34,66	H 4,84	N 17,96%

1,55 g 5-Nitro-4-D-ribitylaminouracil (MG 306,1; 5,07 mMol) wurden in 30 ml H_2O gelöst und mit 500 mg PtO_2 während 4 Std. hydriert; es wurden 510 ml H_2 aufgenommen. Nach der Filtration durch Celite wurde das Filtrat vorsichtig bei 40° bis zur Trockene eingedampft und anschliessend möglichst schnell in 400 ml Äthylenglykol mit 3,3 g Parabansäure (15) (MG 114; 28,9 mMol) und einer Spatelspitze p-Toluolsulfonsäure als Katalysator versetzt. Die Reaktion wurde während 2 Std. bei 12 Torr (Wasserstrahlvakuum) und 108° ausgeführt. Gegen Ende der Reaktionszeit bildete sich ein Niederschlag; nachdem zu der erkalteten Lösung 100 ml H_2O zugegeben wurden, löste sich ein Teil wieder auf. Der verbliebene Rückstand wurde abfiltriert und mit H_2O von ca. 60° gewaschen. Die vereinigten Filtrate wurden auf eine DEAE-Ionenaustauschercellulosesäule (30x6cm) aufgetragen. Die überschüssige Parabansäure mit Nebenprodukten und dem Äthylenglykol wurde mit ca. 1,5 l H_2O eluiert; anschliessend konnten neben dem gesuchten R. P. gelb_{IV} (14) noch die beiden Tricyclen 22, 23 und die 6,7-Dioxo-Verbindung 4 mit 10proz. HAc desorbiert werden.

Nach dem Umkristallisieren aus H_2O betrug die Ausbeute an R. P. gelb_{IV} 14,1 mg (0,04 mMol; 0,71% , bezogen auf 5-Nitro-4-D-ribitylamino-uracil).

Alle spektroskopischen Daten sind mit denjenigen der isolierten Verbindung identisch. Von den drei ebenfalls isolierten Nebenprodukten wurde keine Ausbeute bestimmt. Zu ihrer Charakterisierung wurden jeweils nur die UV.-Spektren aufgenommen.

1. Komponente: Verbindung 4

UV./VIS. (H_2O) Max.: 344 (0,661), 295 (0,783), 219 (1,890).
qualitativ Min.: 317 (0,535), 259 (0,449).

Vgl. Lit. [40].

2. Komponente: Verbindung 22

UV./VIS. (H_2O)

qualitativ

Max.: 431 Sch. (0,732), 426 (0,768), 415
Sch. (0,650), 298 Sch. (0,169), 290
(0,224), 281 Sch. (0,185), 241 (0,866).
Min.: 345 (0,020), 258 (0,134).

Vgl. Lit. [29].

3. Komponente: Verbindung 23

UV./VIS. (H_2O)

qualitativ

Max.: 448 Sch. (0,850), 441 (0,890), 427 Sch.
(0,791), 298 Sch. (0,650), 267 (1,811),
242 (1,323), 204 (1,654).
Min.: 351 (0,201), 251 (1,283), 225 (1,197).

6. Partialsynthese von R.P.gelb_{IV} (14) aus R.P.gelb_I (5).

6.1. Oxidation mit Tollens-Reagenz.

Zu einer Aufschlämmung von 5 mg Ag_2O in 1,5 ml H_2O wurde soviel NH_3 konz. zugegeben, bis das ganze Ag_2O gelöst war. Zu dieser Lösung wurden 2,3 mg (MG 355; 0,06 mMol) R.P.gelb_I in 1,5 ml 0,1N NaOH zugegeben und bei R.T. während 15 Std. stehengelassen. Anschliessend wurde mit verdünnter HCl (1:1) AgCl ausgefällt. Nach Abfiltrieren der Fällung konnte direkt R.P.gelb_{IV} erhalten werden. Die Rf - Werte und die UV./VIS.-Daten stimmen mit denjenigen der isolierten und der synthetisierten Substanz überein.

6.2. Oxidation mit Ag_2O in NaOH.

Wegen der sehr kleinen uns zur Verfügung stehenden Menge an R.P.gelb_I (5) konnte diese Reaktion nur im Mikromassstab ausgeführt werden. Eine Spatelspitze R.P.gelb_I wurde direkt zu 0,5 ml 0,1N NaOH mit sehr wenig Ag_2O zugegeben. Nach 1,5 Std. Rühren bei R.T. konnte im DC kein Edukt mehr beobachtet werden. Neben dem gesuchten R.P.gelb_{IV}

(14) konnte auch die Bildung von 6,7-Dioxolumazin 4 dünnschichtchromatographisch nachgewiesen werden.

Die DC- und UV.-Werte stimmen mit denjenigen des unter 6.1. erhaltenen Produktes überein. Ferner sind in den Tabellen 1 und 2 diese Werte im Vergleich mit denjenigen der isolierten Verbindung aufgeführt.

7. Synthesen von Modellsubstanzen für 6-Amino-7-oxo-8-D-ribityl-7,8-dihydrolumazin (6).

7.1. 8-Methyllumazin (24).

8-Methyllumazin wurde nach [22] synthetisiert. Die hier zusammengestellten spektroskopischen Daten von 24 sollten die in der Literatur unvollständig angegebenen Werte ergänzen.

UV./VIS. (H_2O) Max.: 392 (6317), 270 Sch. (7272), 257 (11435).
Min. : 307 (640).

IR. (KBr): 3000 br., 2820 w, 1700 s, 1645 s, 1605 m,
1530 s, 1460 w, 1430 m, 1400 m, 1325 w,
1245 s, 1210 w, 1190 m, 1140 w, 855 m,
810 m, 775 m.

^1H -NMR. (d_6 -DMSO): 4,5 (s, $\text{CH}_3\text{-N}(8)$); 8,78 und 8,92 (je d, je $J=4$,
60 MHz. H-C(6) und H-C(7)).

MS. m/z: 178 (M^+ , 100), 164 (16), 149 (8), 135 (76), 127
(32), 107 (32), 93 (28).

$\text{C}_7\text{H}_6\text{N}_4\text{O}_2$ Ber. C 47,19 H 3,40 N 31,43%
(178,16) Gef. C 46,87 H 3,45 N 31,70%

7.1.1. Nitrierung resp. Nitrosierung von 8-Methyllumazin (24).

Die Nitrierung in H_2SO_4 konz. und HNO_3 rauchend lieferte neben wenigen nicht identifizierbaren Produkten nur das Edukt 24, diejenige sowohl in HNO_3 aq. wie auch in HNO_3 konz. nur das entsprechende

Nitratsalz, das nach Zugabe einer Base (z.B. Benzylamin) in 24 zurückgeführt werden konnte.

Die Nitrosierungen wurden in verdünnter Essigsäure oder HCl mit NaNO_2 durchgeführt. Bei allen Ansätzen konnten wir neben wenigen Nebenprodukten nur das Edukt 24 zurückisolieren.

7.1.2. Bromierung von 8-Methyllumazin (24).

100 mg 8-Methyllumazin (24) (MG 178; 0,56 mMol) wurden in 20 ml H_2O gelöst, anschliessend wurde bei R.T. solange Br_2 in H_2O zugetropft, bis die Br_2 -Farbe geradenoch bestehen blieb. Das Reaktionsgemisch wurde am Rotationsverdampfer zur Trockene eingedampft und der Rückstand an einer DEAE-Cellulosesäule (12x2cm) chromatographiert. Mit H_2O haftete das Hauptprodukt, die unerwünschten Nebenprodukte konnten so ausgewaschen werden. Mit 10proz. Essigsäure konnte das gesuchte Produkt 26 eluiert werden. Diese Verbindung ist im UV-Licht bei 360 nm blaufluoreszierend.

Rf-Werte: 0,35 (4proz. Na-Citrat), 0,63 (Butanol/HAc/ H_2O
(Cellulose DC) 5:3:5), 0,39 (4proz. NH_4Cl).

UV./VIS. (H_2O) Max.: 349 (0,859), 284 (0,643), 260 (0,359), 210
qualitativ (2,050).
Min.: 315 (0,246), 246 (0,318).

^1H -NMR. (d_6 -DMSO): 3,5 (s, $\text{CH}_3\text{-N}(8)$).
60 MHz.

MS. m/z: 274 (M^+ , 4), 272 (M^+ , 4), 230 (20), 228 (100),
199 (4), 194 (3), 187 (13), 185 (38), 165 (6),
157 (13), 123 (10).

7.2. 8-Methyl-7-oxo-7,8-dihydrolumazin (27).

Die Kondensation von 5-Amino-4-methylaminouracil (Abschnitt VII.4.3.) mit Glyoxylsäure-äthylester-halbacetal hergestellt nach [71] wurde nach

[72] durchgeführt. Analog zu 8-Methylumazin (24) werden auch hier im Folgenden einige spektroskopische Daten von 27 zusammengestellt.

Rf-Werte:	0,26 (2-Propanol/1proz. NH_3 4:1), 0,41
(Cellulose DC)	(4proz. NH_4Cl), 0,42 (4proz. Na-Citrat).
UV./VIS. (0,1N HCl)	Max.: 332 (0,551), 277 (0,524), 217 Sch.
qualitativ	(0,348), 206 (0,610).
	Min.: 295 (0,244), 243 (0,076).
(0,1N NaOH)	Max.: 358 (0,675), 285 (0,271), 261 (0,396),
	219 (0,704).
	Min.: 303 (0,108), 273 (0,228), 240 (0,221).
(H_2O)	Max.: 349 (0,657), 286 (0,469), 258 (0,223),
	216 (1,057).
	Min.: 304 (0,160), 265 (0,214), 243 (0,204).
IR. (KBr):	3430 br., 3000 w, 2820 w, 1730 m, 1650 s,
	1520 s, 1430 s, 1410 m, 1370 w, 1240 w,
	1040 w, 790 w.
^1H -NMR. (d_6 -DMSO):	3,4 (s, $\text{CH}_3\text{-N}(8)$), 7,5 (s, $\text{H-C}(6)$), 10,7
60 MHz.	(br., 1 N-H)
MS. m/z:	194 (M^+ , 100), 166 (17), 151 (13), 123 (43),
	95 (22).

7.2.1. Bromierung von 8-Methyl-7-oxo-7,8-dihydrolumazin (27).

10 mg 8-Methyl-7-oxo-7,8-dihydrolumazin (27) (MG 194; 0,05 mMol) wurden in 10 ml H_2O gelöst und analog 7.1.2. mit $\text{Br}_2/\text{H}_2\text{O}$ versetzt. Am Rotationsverdampfer wurde das Reaktionsgemisch bis zur Trockene eingedampft. Da es sich beim Rückstand nach den DC-Untersuchungen nur um eine Verbindung handelte, wurde dieser direkt am HV bei 40° getrocknet. Die Ausbeute an 25 betrug 13 mg (0,048 mMol; 95%).

Rf - Werte: (Cellulose DC)	0,36 (2-Propanol/1proz. NH_3 4:1), 0,33 (4proz. NH_4Cl), 0,25 (4proz. Na-Citrat).
UV./VIS. (0,1N HCl)	Max.: 339 (4670), 279 (3420), 203 (8280). Min.: 297 (1530), 246 (560).
(0,1N NaOH)	Max.: 367 (14450), 262 (11420), 218 (17670). 280 Sch. (6000). Min.: 304 (2050), 240 (6450).
(H_2O)	Max.: 356 (10980), 287 (7160), 257 (3830), 213 (21480). Min.: 305 (1920), 266 (3460), 243 (3380).
IR. (KBr):	3420 br., 3200 m, 3080 w, 2820 w, 1750 s, 1670 s, 1595 w, 1545 s, 1460 m, 1440 s, 1430 m, 1280 w, 1160 w, 1030 s, 900 w, 805 w, 715 w.
^1H -NMR. (d_6 -DMSO): 60 MHz.	3,5 (s, $\text{CH}_3\text{-N}(8)$); 11,6 (br., 1 N-H).
MS. m/z:	274 (M^+ , 100), 272 (M^+ , 100), 231 (38), 229 (38), 203 (19), 201 (19), 194 (31), 179 (31), 175 (19), 173 (19), 165 (25), 155 (25), 144 (19), 123 (38), 122 (69).
$\text{C}_7\text{H}_5\text{BrN}_4\text{O}_3$ (273,06)	Ber. C 30,79 H 1,85 Br 28,96 N 20,52% Gef. C 30,68 H 2,10 Br 30,03 N 19,45%

7.2.2. Methylierung von 6-Brom-8-methyl-7-oxo-7,8-dihydrolumazin (25) mit Diazomethan.

80 mg 6-Brom-8-methyl-7-oxo-7,8-dihydrolumazin (MG 273; 0,3 mMol) wurden in 100 ml DME aufgeschlämmt und bei 0° mit Diazomethan versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 2 Std. bei 0° , 3 Std. bei R.T. ge-

rührt und anschliessend am Rotationsverdampfer bis zur Trockene eingedampft. Nach dreimaliger Umkristallisation aus Aethanol betrug die Ausbeute an 28 (oder 29) 29 mg (0,1 mMol; 32%).

UV./VIS. (95proz. Aethanol) Max.: 346 Sch. (9770), 334 (12570), 324 Sch. (11400), 249 (6360), 241 (6260), 213 (17290).
Min.: 262 (2470), 245 (6170), 236 (5840).

IR. (KBr): 1680 s, 1585 m, 1560 s, 1510 m, 1490 s, 1380 m, 1310 w, 1230 w, 1210 m, 1050 w, 990 w, 945 w, 870 w, 790 w.

$^1\text{H-NMR}$. (d_6 -DMSO/ CF_3COOH) 60 MHz. 3,63 (s, $\text{CH}_3\text{-N}(8)$); 4,03 (s, 1 O-CH_3); 4,10 (s, 1 O-CH_3).

MS. m/z: 302 (M^+ , 59), 300 (M^+ , 59), 287 (9), 285 (9), 273 (18), 271 (18), 257 (12), 255 (12), 221 (24), 193 (41), 149 (29), 142 (24), 100 (53), 91 (100).

7.2.3. Kupplung von 8-Methyl-7-oxo-7,8-dihydrolumazin (27) mit Phenyldiazoniumchlorid (32).

Bei 0° wurden 50 mg Anilin (MG 93; 0,5 mMol) in 1,5 ml 6N HCl gelöst und mit 37 mg NaNO_2 (MG 69; 0,5 mMol) versetzt. Dieses Phenyldiazoniumsalz wurde ebenfalls unter Eiskühlung zu 100 mg 8-Methyl-7-oxo-7,8-dihydrolumazin (MG 194; 0,5 mMol) in 15 ml 2N Na_2CO_3 -Lösung langsam zugetropft. Das Reaktionsgemisch färbte sich nach kurzer Zeit braun. Nach 15 Min. Rühren bei 0° und weiteren 60 Min. bei R.T. wurde das Reaktionsgemisch eingeeengt und die Lösung auf einer Sephadex G 15-Säule (30x4cm) mit H_2O als Eluierungsmittel chromatographiert. Neben 20 mg Edukt 27 konnte das Produkt 37 in einer Ausbeute von 15 mg (0,06 mMol; 13,5% bezogen auf 80 mg von 27) erhalten werden.

Rf - Wert:	0,13 (4proz. Na-Citrat). (Cellulose DC)
UV./VIS. (0,1N HCl)	Max.: 349 (0,364), 285 (0,248), 225 Sch. (0,420), 203 (0,888). Min.: 308 (0,152), 259 (0,140).
(0,1N NaOH)	Max.: 374 (0,928), 292 (0,428), 259 (0,440), 240 Sch. (0,508), 219 (1,112). Min.: 316 (0,152), 282 (0,400), 256 (0,392).
(H ₂ O)	Max.: 367 (0,604), 295 (0,368), 238 Sch. (0,380), 214 (1,056). Min.: 316 (0,152), 270 (0,204).
IR. (KBr):	3430 br., 3135 br., 3040 m, 2840 m, 1740 s, 1660 s, 1595 m, 1545 s, 1440 s, 1420 s, 1370 w, 1330 w, 1290 m, 1280 w, 1260 w, 1020 m, 900 w, 800 m, 750 m, 690 m.
¹ H-NMR. (d ₆ -DMSO): 60 MHz.	3,4 (s, CH ₃ -N(8)); 7,3 (m, 3 Aromatenprotonen und H-C(6)); 8,2 (m, 2 Aromatenprotonen); 9,8 (br., 1 N-H).
MS. m/z:	270 (M ⁺ , 100), 255 (17), 227 (13), 211 (13), 199 (25), 147 (25), 118 (38).

7.2.4. Kupplung von 8-Methyl-7-oxo-7,8-dihydrolumazin (27) mit p-Nitro-phenyldiazoniumchlorid (33).

300 mg p-Nitranilin (MG 138; 2,2 mMol) wurden bei 0° in 20 ml 50proz. Essigsäure gelöst und mit 160 mg NaNO₂ (MG 69; 2,3 mMol) diazotiert. Anschliessend wurde das Diazoniumsalz bei 0° zu 200 mg 27 (MG 194; 1 mMol) in 25 ml 25proz. NaAc zugetropft. Der Ansatz färbte sich schon nach kurzer Zeit rötlich-braun. Die Reaktion wurde zunächst 15 Min. bei 0°, dann 2 Std. bei R.T. und schliesslich 1 Std.

bei 50^o durchgeführt. Der gebildete Niederschlag wurde nach dem Abkühlen abfiltriert, die Rohausbeute betrug 260 mg; es handelte sich jedoch um ein Gemisch von zahlreichen Substanzen, unter denen sich auch eine rote Komponente befand. Diese konnte erst nach dreifacher Chromatographie sauber erhalten werden.

Die 1. Chromatographie wurde auf Sephadex LH 20 (60x6cm) mit Methanol/Essigester 1:1 als Eluierungsmittel ausgeführt. Anschliessend folgte eine Reinigung am Sephadex CM C 25 (42x6cm) mit H₂O. Die Schlussreinigung wurde an DEAE-Cellulose (18x3cm) ausgeführt. Als Eluierungsmittel wurde ein Essigsäuregradient von 0% bis 70% angewendet. Die gesuchte rote Komponente konnte ab 60proz. HAc langsam desorbiert werden.

Die Ausbeute an der so gereinigten Substanz betrug 62 mg (0,2 mMol; 18%). Nach dem Umkristallisieren aus H₂O konnten jedoch lediglich 12 mg (0,03 mMol; 3,5%) 34 erhalten werden.

Rf -Werte: 0,0 (4proz. Na-Citrat), 0,6 (Butanol/HAc/
(Cellulose DC) H₂O 5:3:5).

UV./VIS. (0,1N HCl) Max.: 421 (0,251), 289 (0,251), 203 (0,804).
qualitativ Min.: 343 (0,122), 247 (0,184).

(0,1N NaOH) Max.: 522 (0,871), 297 (0,349), 216 (0,639).
Min.: 391 (0,118), 269 (0,282).

(H₂O) Max.: 480 (0,698), 296 (0,380), 206 (0,769).
Min.: 365 (0,098), 258 (0,239).

IR. (KBr): 3420 br., 2930 m, 2860 w, 1655 s, 1525 s,
1420 m, 1390 m, 1335 s, 1260 m, 1230 w,
1110 w, 1035 w, 990 w, 895 w, 800 w, 750 w.

¹H-NMR. (d₆-DMSO): 3,5 (s, CH₃-N(8)); 7,97 (d, J=9, H-C(2') und
90 MHz. H-C(6')); 8,38 (d, J=9, H-C(3') und H-C(5'));
10,3 (s, 1 N-H).

MS. m/z: 343 (M^+ , 3), 315 (2), 259 (3), 209 (5), 195 (4),
138 (31), 126 (23), 44 (100).

7.2.5. Reduktion der Azoverbindung 34 zu 6-Amino-8-methyl-7-oxo-
7,8-dihydrolumazin (36).

49 mg der Azoverbindung 34 (MG 343; 0,14 mMol) wurden in 7 ml Ameisensäure gelöst und bei 0° langsam mit 30 mg Sn in 18 ml Ameisensäure versetzt. Die ursprünglich rote Lösung entfärbte sich schon nach sehr kurzer Zeit. Nach Stehenlassen während 10 Min. bei 0° und 50 Min. bei R.T. wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer eingedampft und der Rückstand in Wasser aufgenommen. Vom überschüssigen Sn wurde abfiltriert und hierauf die Lösung an Sephadex G 15 (55x6cm) mit H₂O als Eluierungsmittel chromatographiert. Die Ausbeute betrug 6 mg (0,03 mMol; 21%).

Rf-Werte: 0,3 (4proz. Na-Citrat),
(Cellulose DC) 0,7 (Butanol/HAc/H₂O 5:3:5).

UV./VIS. (0,1N HCl) Max.: 342 (0,542), 294 (0,575), 206 (1,208).
qualitativ Min.: 312 (0,392), 256 (0,148).

(0,1N NaOH) Max.: 359 (0,579), 304 (0,604), 226 Sch. (0,892),
219 (0,960).
Min.: 325 (0,352), 269 (0,152).

(H₂O) Max.: 354 (0,630), 304 (0,729), 222 Sch. (1,016),
207 (1,554).
Min.: 324 (0,456), 265 (0,184).

IR. (KBr): 3430 m, 3200 br., 1670 m, 1610 s, 1530 w,
1440 br..

¹H-NMR. (d₆-DMSO): 3,4 (s, CH₃-N(8)); 6,2 (br., NH₂-C(6)); 10,1
90 MHz. (br., 1 N-H).

MS. m/z: Beobachtet werden konnte nur der M^+ -Peak: 209.

7.2.6. Hydrolyse von 6-Amino-8-methyl-7-oxo-7,8-dihydrolumazin (36)
zu 6,7-Dioxo-8-methyl-5,6,7,8-tetrahydrolumazin (38).

1 mg 6-Amino-8-methyl-7-oxo-7,8-dihydrolumazin (MG 209; 0,005 mMol) wurde in 1 ml 2proz. HAc gelöst und im evakuierten Bombenrohr 4,5 Std. auf 150° erwärmt. Nach dem Aufarbeiten wurde praktisch reine 6,7-Dioxoverbindung 38 erhalten.

Rf-Werte: 0,4 (4proz. Na-Citrat),
(Cellulose DC) 0,6 (Butanol/HAc/H₂O 5:3:5).

UV./VIS. (0,1N HCl) Max.: 330 (0,412), 293 (0,480), 206 (0,780).
qualitativ Min.: 309 (0,364), 250 (0,168).
(0,1N NaOH) Max.: 351 (0,508), 306 (0,588), 221 (0,980).
Min.: 327 (0,412), 264 (0,188).

8. Synthese von 6-Amino-7-oxo-8-D-ribityl-7,8-dihydrolumazin (6).

8.1. 7-Oxo-8-D-ribityl-7,8-dihydrolumazin (2) (Desmethyl-V-Compound).

1 g 5-Nitro-4-D-ribitylaminouracil (MG 306; 3,27 mMol) (Herstellung Abschnitt VII. 5.) wurde in 20 ml H₂O gelöst und mit 300 mg PtO₂ hydriert. Nach dem Abfiltrieren des Katalysators über Celite wurde das Filtrat mit 1N HCl schwach angesäuert und mit 1 gr Glyoxylsäure-äthylester-halbacetal (MG 148; 6,73 mMol) hergestellt nach [71] versetzt. Nach 20 Min. Rühren bei R.T. wurde die schwach saure Lösung mit NaHCO_{3aq} neutralisiert und das Reaktionsgemisch weitere 15 Min. unter Rückfluss gekocht. Die Lösung wurde anschliessend eingeeengt und an Dowex 50 W x 12 (H⁺-Form) (25x2cm) mit H₂O als Eluierungsmittel chromatographiert. Nach Umkristallisieren aus EtOH/H₂O betrug die Ausbeute 240 mg an Desmethyl-V-Compound (2) (0,76 mMol;

23, 3% bezogen auf 5-Nitro-4-D-ribitylaminouracil).

Rf-Werte: 0,6 (4proz. Na-Citrat),
(Cellulose DC) 0,7 (Butanol/HAc/H₂O 5:3:5).

UV./VIS. (0,1N HCl) Max.: 329 (0,405), 276 (0,408), 226 Sch. (0,352),
204 (0,708).

Min.: 296 (0,208), 250 (0,184).

(0,1N NaOH) Max.: 358 (0,548), 280 Sch. (0,240), 261 (0,412),
218 (0,788).

Min.: 301 (0,148), 242 (0,276).

(H₂O) Max.: 346 (0,406), 286 (0,288), 260, Sch. (0,196),
214 (0,880).

Min.: 303 (0,120), 245 (0,152).

IR. (KBr): 3380 br., 1725 m, 1670 br., 1545 m, 1510 s,
1430 m, 1240 w, 1070 w, 1035 m.

¹H-NMR. (d₆-DMSO): 3,3-3,7 (m, CH₂(1'), CH₂(5') und H₂O); 3,8-
90 MHz. 4,1 (m, H-C(2')); 4,1-4,3 (m, H-C(3') und
H-C(4')); 7,6 (s, H-C(6)); 11,0 (br., 1 N-H).

C₁₁H₁₄N₄O₇ x 1/2 Mol H₂O Ber. C 40,86 H 4,69 N 17,32%
(314,3 + 9,01) Gef. C 40,85 H 5,33 N 17,56%

8.1.1. Kupplung von Desmethyl-V-Compound (2) mit p-Nitro-phenyldiazo- niumchlorid (33).

100 mg Desmethyl-V-Compound (MG 314; 0,32 mMol) wurden in 25 ml
NaAc_{aq.} gelöst und bei 0° mit p-Nitro-phenyldiazoniumchlorid (herge-
stellt aus 110 mg p-Nitranilin und 55 mg NaNO₂ in 10 ml 50proz. HAc)
versetzt. Die Reaktionslösung färbte sich während 4 Std. Rühren bei
R.T. tief rot. Die anschliessende Reinigung der gebildeten Produkte
wurde nach dreifacher Chromatographie erreicht; zunächst mit

Sephadex LH 20 (20x2cm) mit Methanol/Essigester 3:7, darauf mit Sephadex CM C 25 (30x2cm) mit H_2O , und schliesslich mit DEAE-Cellulose (7x2cm) mit einem Essigsäuregradienten von 0% bis 70%. Auf diese Weise konnte ein rotes und ein gelbes Produkt isoliert werden.

Rote Komponente 35: Ausbeute 31 mg (0,07 mMol; 21%)

Rf-Werte: 0,05 (4proz. Na-Citrat),
(Cellulose DC) 0,55 (Butanol/HAc/ H_2O 5:3:5).

UV./VIS. (0,1N HCl) Max.: 428 (0,268), 290 (0,224), 216 Sch. (0,280),
qualitativ 204 (0,352).
Min.: 345 (0,070), 245 (0,120).

(0,1N NaOH) Max.: 526 (0,572), 298 (0,264), 219 (0,500).
Min.: 397 (0,096), 276 (0,240).

(H_2O) Max.: 482 (0,528), 297 (0,312).
Min.: 370 (0,091), 267 (0,216).

IR (KBr): 3420 br., 2920 w, 2810 w, 1640 s, 1500 s,
1420 m, 1335 s, 1240 m, 1220 w, 1140 w, 1105 w,
1040 w, 990 w, 865 w, 840 m, 800 w, 750 w.

1H -NMR. (d_6 -DMSO): 3,5-5,0 (m, Ribitylgruppe); 7,93 (d, $J=9$, H-C(2')
90 MHz. und H-C(6')); 8,32 (d, $J=9$, H-C(3') und H-C(5'));
10,4 (br., 1 N-H).

Gelbe Komponente 39: Ausbeute 42 mg (0,09 mMol; 30%)

Rf-Werte: 0,15 (4proz. Na-Citrat),
(Cellulose DC) 0,71 (Butanol/HAc/ H_2O 5:3:5).

UV./VIS. (0,1N HCl) Max.: 371 (17480), 275 (7900), 204 (21080).
Min.: 315 (4960), 245 (6110).

(0,1N NaOH) Max.: 413 (23290), 266 (14090), 218 (21150).

Min.: 300 (5110), 247 (11620).

(H₂O) Max.: 394 (21500), 266 (10080), 213 (25300).

Min.: 325 (5300), 247 (8040).

IR. (KBr): 3450 m, 3170 w, 3050 w, 2920 w, 2840 w,
1710 s, 1680 s, 1600 m, 1540 s, 1510 s,
1440 s, 1345 s, 1110 w, 1025 m, 870 m,
860 m.

¹H-NMR. (d₆-DMSO): 3,1-3,6 (m, CH₂(1''), CH₂(5'') und H₂O); 3,9-
100 MHz. 4,1 (m, H-C(2'')); 4,3-4,5 (m, H-C(3'') und
H-C(4'')); 8,26 (d, J=9, H-C(2') und H-C(6'));
8,56 (d, J=9, H-C(3') und H-C(5')); 10,6 (s,
1 N-H).

C₁₇H₁₇N₅O₉ x 1/2 Mol H₂O Ber. C 45,94 H 4,10 N 15,76%
(435,41 + 9,01) Gef. C 45,99 H 4,52 N 15,94%

8.1.2. Reduktion der Azoverbindung 35 zu 6-Amino-7-oxo-8-D-
ribityl-7,8-dihydrolumazin (6).

15 mg der Azoverbindung 35 (MG 463; 0,032 mMol) wurden in 3 ml
Ameisensäure gelöst und mit einer Spatelspitze Sn während 20 Min.
bei R.T. gerührt. Anschliessend wurde das Lösungsmittel am Rota-
tionsverdampfer eingedampft und der Rückstand in H₂O aufgenommen.
Die Reinigung des Produktes erfolgte an Sephadex G 15 (15x2cm) mit
H₂O als Eluierungsmittel. Die Ausbeute von 6-Amino-7-oxo-8-D-ribityl-
7,8-dihydrolumazin (6) betrug 3,5 mg (0,01 mMol; 33,3%).

Rf-Werte: 0,46 (4proz. Na-Citrat), 0,55 (Butanol/HAc/H₂O
(Cellulose DC) 5:3:5), 0,86 (20proz. HAc), 0,60 (4proz. NH₄Cl).

CD. (H₂O): 235 (-10), 300 (+1,7), 330 (-1,3).
qualitativ

versetzt. Nach einer weiteren Std. bei R.T. wurden vorsichtig 10 ml $\text{HCl}_{\text{konz.}}$ zugegeben. Der gebildete Niederschlag wurde abfiltriert. Nach Umkristallisieren aus H_2O wurden 1,6 g farblose Kristalle erhalten, Smp. 194° .

IR. (KBr): 3470 m, 3410 s, 3340 m, 3290 m, 3030 s, 2600 m, 1785 w, 1745 s, 1680 w, 1560 m, 1500 w, 1370 m, 1330 s, 1110 w, 1080 w, 990 m, 800 m, 760 m, 730 m, 700 w, 660 m.

^1H -NMR. (d_6 -DMSO): 6,8 (br., 2 NH_2); 8,4 (br., 1 N-H); 11,7 (br., 2 N-H).
60 MHz.

MS. m/z: 127 (71), 116 (16), 99 (69), 58 (47), 44 (100), 43 (76).

9.2. Ausgangsmaterial: 4-Phenylurazol (42)

Das 4-Phenylurazol wurde nach [45] synthetisiert.

9.2.1. N-N-Spaltung mit Raney-Ni in Aethanol und anschliessende Kondensation mit Oxalylchlorid.

2,5 g 4-Phenylurazol (42) (MG 177; 14 mMol) wurden in 60 ml Aethanol gelöst und mit ca. 8 g Raney-Ni (hergestellt nach [47]) analog zu [46] versetzt. Das Reaktionsgemisch färbte sich grün. Nach 15 Std. Kochen unter Rückfluss wurde der Katalysator über Celite abfiltriert und das Filtrat am Rotationsverdampfer bis zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wurde aus Methanol umkristallisiert. Beim Produkt handelte es sich um Phenylharnstoff (45); Ausbeute: 220 mg (1,6 mMol, 11,6%). Smp. 140° .

^1H -NMR. (d_6 -DMSO): 7,45 (m, 5 Aromatenprotonen und 1 NH_2); 100 MHz. 12,26 (br., 1 N-H).

Versetzt man die oben erhaltenen 220 mg Kristalle mit einem Ueberschuss an Oxalylchlorid, so kann man nach 30 Min. Rühren bei R. T., anschliessendem Eindampfen, Trocknen am HV und Umkristallisieren aus EtOH 50 mg 1-Phenylparabansäure (46) (0,26 mMol; 16,4%) erhalten. Smp. 203°.

MS. m/z: 190 (M⁺, 33), 119 (100), 91 (44).

C ₉ H ₆ N ₂ O ₃	Ber. C 56,84 H 3,19 N 14,73%
(190,17)	Gef. C 56,71 H 3,31 N 14,68%

9.2.2. N-N-Spaltung mit Raney-Ni in C₂H₅OH/CF₃COOH und anschliessende Kondensation mit Oxalylchlorid.

1 g 4-Phenylurazol (42) (MG 177; 5,6 mMol) wurde in 30 ml Aethanol gelöst und mit ca. 5 g Raney-Ni und 1 ml CF₃COOH versetzt. Nach 4 Std. Kochen unter Rückfluss wurde der Raney-Ni über Celite abfiltriert und das grüne Filtrat am Rotationsverdampfer zur Trockene eingedampft. Nach dem Umkristallisieren aus Aethanol betrug die Ausbeute 100 mg (0,56 mMol; 10%) an 3-Phenylbiuret (43). Smp. 179°.

¹H-NMR. (d₆-DMSO): 6,8-7,6 (m, Aromatische- und NH₂-Protonen). 60 MHz.

MS. m/z: 179 (M⁺, 1), 136 (36), 119 (6), 93 (100), 91 (13), 77 (8), 65 (40), 44 (64).

C ₈ H ₉ N ₃ O ₂	Ber. C 53,63 H 5,06 N 23,45%
(179,18)	Gef. C 53,59 H 4,80 N 23,34%

40 mg 3-Phenylbiuret (43) (MG 179; 0,22 mMol) wurden mit einem Ueberschuss an Oxalylchlorid versetzt und bei R. T. während 16 Std. gerührt. Anschliessend wurde zu dem Reaktionsgemisch etwas EtOH zugegeben, eingedampft und am HV getrocknet. Nach dem Umkristallisieren aus Aethanol erhielt man 23 mg weisses Pulver, mit Smp. 159°.

Rf-Wert: 0,40 (Essigester/Aceton 10:1).
(Kieselgel DC)

IR. (KBr): 3520 m, 3500 m, 3400 s, 3350 m, 2990 w,
1780 s, 1750 s, 1720 m, 1680 s, 1580 s,
1490 s, 1400 m, 1310 s, 1275 m, 1210 s,
1130 m, 1110 m, 1020 m, 750 m, 700 s.

^1H -NMR. (d_6 -DMSO): 1,3 (t) und 4,25 (q) (wenig EtOH); 7,2-7,6
100 MHz. (m, 5 Aromatenprotonen und 1 NH_2); 13,3
(br., 1 N-H).

MS. m/z: 263 (1), 261 (2), 236 (26), 206 (13), 190 (1),
163 (5), 136 (11), 119 (100), 93 (33), 91 (13),
77 (11), 65 (15).

9.3. [2+2] Cycloaddition von Tetramethoxyäthylen (47) und 4-Phenyl-
1,2,4-triazolin-3,5-dion (48) mit anschliessender N-N-Spaltung.

Tetramethoxyäthylen (47) wurde nach [48] hergestellt. Identifikation:

^1H -NMR. (CCl_4): 3,5 (s, 4 $\text{CH}_3\text{-O}$ -Gruppen).
60 MHz.

Zu einer Lösung von 250 mg frisch sublimierten 48 (MG 175; 1,4 mmol) in 30 ml trockenem THF wurde bei -78° langsam soviel Tetramethoxyäthylen (47) gelöst in THF zugetropft, bis die rote Lösung nach gelb umgeschlagen hatte. Anschliessend wurde das THF vorsichtig eingedampft und der Rückstand aus Äther/Hexan umkristallisiert. Erhalten wurden 50 mg weisse Kristalle.

^{13}C - und ^1H -NMR.-Spektren wiesen auf das Vorliegen eines Gemisches hin. Eine Strukturzuordnung ist uns nicht gelungen.

25 mg der oben erhaltenen Kristalle wurden in Äthanol gelöst und mit 0,1 ml CF_3COOH und Raney-Ni versetzt. Nach 3 Std. Rühren bei R.T. wurde der Raney-Ni über Celite abfiltriert und das Filtrat am Rota-

tionsverdampfer zur Trockene eingedampft. Wegen der sehr kleinen Substanzmenge gelang es nur, ein MS-Spektrum aufzunehmen, demnach handelt es sich beim Produkt um 1-Phenyl-1,3,5-triazin-trion (50).

MS. m/z: 205 (M^+ , 1), 162 (1), 149 (6), 119 (8), 110 (11), 95 (12), 69 (24), 44 (100).

9.4. Reaktion von Dibenzylloxalamid (51) mit PCl_5 .

Das Dibenzylloxalamid wurde aus Oxalsäurediäthylester mit Benzylamin nach [49] hergestellt.

1 g Dibenzylloxalamid (MG 268; 3,7 mMol) wurde mit 2,7 g PCl_5 während 1 Min. auf 110° erwärmt. Nach dem Abkühlen wurde der Rückstand mit Aether gegen Na_2CO_3 -Lösung extrahiert und anschliessend neutralgewaschen. Die Aetherfraktion wurde am Rotationsverdampfer eingedampft und der Rückstand auf einer präparativen Kieselgelplatte mit Essigester/Hexan 10:11 aufgetrennt. Das Produkt 2 (Rf-Wert-Bereich: 0,48-0,74) wurde rein erhalten, dagegen musste das Produkt 1 (Rf-Wert-Bereich: 0,27-0,45) auf einer zweiten Kieselgelplatte mit Benzol rechromatographiert werden. Beim Produkt 1 handelt es sich um 1-Benzyl-4,5-dichlor-2-phenylimidazol (52), Ausbeute 250 mg (0,82 mMol; 22%), Smp. 59-60°.

UV./VIS. (Aether) Max.: 272 (12880), 214 (15850).
Min.: 236 (4070).

IR. (KBr): 3060 w, 3040 w, 1730 w, 1610 w, 1530 s,
1515 m, 1500 m, 1470 s, 1455 s, 1445 s,
1400 s, 1365 s, 1330 w, 1290 m, 1270 m,
1250 m, 1185 m, 1090 m, 1080 m, 1030 m,
1010 s, 1000 m, 970 w, 925 m, 770 s, 730 s,
710 s, 700 s.

^1H -NMR. (CCl_4): 5,2 (s, $\text{CH}_2\text{-N(1)}$); 6,8-7,4 (m, 10 Aromatenprotonen).
60 MHz.

^{13}C -NMR. (CDCl_3): 49,02 (t, $\text{CH}_2\text{-(Benzyl)}$); 114,36, 126,29, 129,20, 135,32, 145,94 (je s, C(2), C(4), C(5); C(1) (Phenyl), C(1) (Benzyl)); 125,74, 127,85, 128,43, 128,60, 128,90, 129,49 (je d, C(2), C(2'), C(3), C(3'), C(4) (Phenyl); C(2), C(2'), C(3), C(3'), C(4) (Benzyl)).
25,2 MHz.

MS. m/z: 306 (M^+ , 2), 304 (M^+ , 4), 302 (M^+ , 7), 91 (100).

$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{Cl}_2$	Ber.	C 63,38	H 3,99	N 9,24	Cl 23,38%
(303,2)	Gef.	C 62,76	H 4,35	N 9,37	Cl 23,44%

Beim 2. Produkt handelt es sich um 1-Benzyl-5-chlor-2-phenylimidazol (53), Ausbeute 400 mg (3,7 mMol; 40%), Smp. 78-79°.

UV./VIS. (Aether) Max.: 265 (15140), 214 (17380).
Min.: 234 (5500).

IR. (CCl_4): 3070 w, 3040 w, 2940 w, 1610 w, 1505 s, 1500 s, 1470 s, 1460 s, 1400 s, 1375 w, 1360 s, 1265 m, 1190 m, 1080 m, 1030 m, 980 m, 920 m.

^1H -NMR. (CCl_4): 5,2 (s, $\text{CH}_2\text{-N(1)}$); 6,9-7,5 (m, 10 Aromatenprotonen und H-C(4)).
60 MHz.

^{13}C -NMR. (CDCl_3): 47,99 (t, $\text{CH}_2\text{-(Benzyl)}$); 118,87, 130,29, 136,07, 147,82 (je s, C(2), C(4); C(1) (Phenyl), C(1) (Benzyl)); 125,66 (d, C(5)); 125,66, 127,58, 128,37, 128,47, 128,76, 129,00 (je d, C(2), C(2'), C(3), C(3'), C(4) (Phenyl); C(2), C(2'), C(3), C(3'), C(4) (Benzyl)).
25,2 MHz.

MS. m/z: 270 (M^+ , 7), 268 (M^+ , 14), 91 (100).

$C_{16}H_{13}N_2Cl$	Ber.	C 71,50	H 4,84	N 10,42	Cl 13,10%
(268,78)	Gef.	C 71,41	H 4,66	N 10,38	Cl 13,23%

VIII. LITERATURVERZEICHNIS.

- [1] H. Romagnesi, Les Russules d'Europe et d'Afrique du Nord, Bordas, Paris 1967.
- [2] C.H. Eugster & P.X. Iten, Chemistry and Biology of Pteridins, S. 881 ff., Walter de Gruyter, Berlin-New York 1975.
- [3] E.F. Frauenfelder, Dissertation, Universität Zürich 1970.
- [4] H. Koch, Dissertation, Universität Zürich 1975.
- [5] P.X. Iten, Dissertation, Universität Zürich 1973.
- [6] G.W.E. Plaut & R.L. Beach, Flavins and Flavoproteins, S. 737, Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam 1976.
- [7] Th.J. Venakis, Dissertation, Universität Zürich 1978.
- [8] K. Gluchoff, Thèse, Universität Lyon 1969.
- [9] T. Masuda, T. Kishi & M. Asai, Chem. pharm. Bull. Japan 5, 598 (1957).
- [10] K. Gluchoff & P. Lebreton, Compt. rend. Acad. Sci. Paris D 270, 213 (1970).
- [11] N. Bregant & Z. Turk, Bull. Sci. Yougosl., Section A 15, 158 (1970).
- [12] K. Balenovic, D. Cerar, Z. Pucar & V. Skaric, Arhiv za Kemiju 27, 15 (1955).
- [13] J.L. Bonnet, Bull. Soc. mycol. France 75, 215 (1959).
- [14] P. Watson, Trans. brit. mycol. Soc. 49, 11 (1966).
- [15] C.H. Eugster, Zeitschrift f. Pilzkunde 39, 45 (1973).
- [16] T. Masuda, T. Kishi & M. Asai, Chem. pharm. Bull. Japan 6 291 (1958).

- [17] A. Suzuki, T. Miyagawa & M. Goto, Bull. chem. Soc. Japan 45, 2198 (1972).
- [18] P.X. Iten, H. Märki-Danzig & C.H. Eugster, Publikation in Vorbereitung.
- [19] P.X. Iten, unveröffentlichte Arbeiten.
- [20] a) E.C. Taylor & M. Inbasekaran, Heterocycles 10, 45 (1978).
b) E.C. Taylor, Y. Maki & A. McKillop, J. org. Chemistry 37 1601 (1972).
c) W. Hutzenlaub, H. Yamamoto, G.B. Barlin & W. Pfeleiderer, Chem. Ber. 106, 3203 (1973).
d) F.F. Blicke & H.C. Godt, J. Amer. chem. Soc. 76, 2798 (1954).
- [21] W. Pfeleiderer, Chem. Ber. 90, 2631 (1957).
- [22] W. Pfeleiderer, J.W. Bunting, D.D. Perrin & G. Nübel, Chem. Ber. 99, 3503 (1966).
- [23] W. Pfeleiderer, Liebigs Ann. Chem. 747, 111 (1971).
- [24] V.J. Ram, W.R. Knappe & W. Pfeleiderer, Tetrahedron Letters 43, 3795 (1977).
- [25] E.C. Taylor & H.M. Loux, J. Amer. chem. Soc. 81, 2474 (1959).
- [26] T. Masuda, T. Kishi, M. Asai & S. Kuwada, Chem. pharm. Bull. Japan 7, 361 (1959).
- [27] T. Masuda, T. Kishi, M. Asai & S. Kuwada, Chem. pharm. Bull. Japan 7, 366 (1959).
- [28] G.F. Maley & G.W.E. Plaut, J. biol. Chemistry 234, 641 (1959).
- [29] J. Davoll & D.D. Evans, J. chem. Soc. 1960, 5041.
- [30] C.H. Winestock & G.W.E. Plaut, J. org. Chemistry 26, 4456 (1961).

- [31] O. Isay, Ber. deutsch. chem. Ges. 39, 250 (1906).
- [32] F. Yoneda, Y. Sakuma & K. Shinomura, J. chem. Soc. Perkin I 1978, 348.
- [33] W. Pfeleiderer & G. Nübel, Chem. Ber. 93, 1406 (1960).
- [34] E.C. Taylor, Chemistry and Biology of Pteridines, S. 543, Walter de Gruyter, Berlin-New York 1975; E.C. Taylor, R.N. Henrie II & D.J. Dumas, Chemistry and Biology of Pteridines, S. 71 und 77, Elsevier North Holland, New York, Amsterdam, Oxford 1978.
- [35] A. Albert & K. Ohta, Chemistry and Biology of Pteridines, S. 1, International academic printing Co., Ltd. Japan 1969.
- [36] D. Clerin, A. Lacroix & J.P. Fleury, Tetrahedron Letters 42, 2899 (1976).
- [37] P.X. Iten, S. Arihara & C.H. Eugster, Helv. 56, 302 (1973).
- [38] H.R. Schulten & H.D. Beckey, Org. Mass Spektr. 9, 1154 (1974).
- [39] J.I. Murray, Org. Synth. Coll. Vol. IV 1963, 744.
- [40] S. Arihara & C.H. Eugster, unveröffentlichte Arbeiten.
- [41] R.M. Cresswell, Th. Neilson & H.C.S. Wood, J. chem. Soc. 1960, 4776.
- [42] R. Gompper, Chem. Ber. 89, 1762 (1956).
- [43] M.S. Premila & C.H. Eugster, Publikation in Vorbereitung.
- [44] P.C. Wszolak, F.W. McLafferty & J.H. Brewster, Org. Mass Spektrometry 1, 127 (1968).
- [45] R.C. Cookson, S.S. Gupte, I.D.R. Stevens & C.T. Watts, Org. Synth. 51, 121 (1971).
- [46] R.L. Hinman, J. org. Chemistry 22, 148 (1957).

- [47] X.A. Dominguez, I.C. Lopez & R. Franco, J. org. Chemistry 26, 1625 (1961).
- [48] R.W. Hoffmann & H. Häuser, Tetrahedron 21, 91 (1965).
- [49] J.K. Sugden, J. chem. Soc. C 1970, 715.
- [50] J. Sarasin, Helv. 6, 370 (1923).
- [51] E.F. Godefroi, C.A.M. van der Eycken & P.A.J. Janssen, J. org. Chemistry 32, 1259 (1967).
- [52] G.W.E. Plaut, Ann. Rev. Biochem. 30, 409 (1961).
- [53] W.S. McNutt, J. Amer. chem. Soc. 83, 2303 (1961).
- [54] A. Bacher & B. Mailänder, Flavins and Flavoproteins, S. 733, Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam 1976.
- [55] H. Rembold & W.L. Gyure, Angew. Chemie 84, 1088 (1972).
- [56] Florkin & Stotz, Comprehensive Biochemistry 21, 111, Elsevier Publishing Company, Amsterdam 1970.
- [57] W.B. Watt, J. biol. Chemistry 242, 565 (1967).
- [58] A.W. Burg & G.M. Brown, J. biol. Chemistry 243, 2349 (1968).
- [59] W.A. Wolf & G.M. Brown, Biochem. biophys. Acta 192, 468 (1969).
- [60] T. Masuda, T. Kishi, M. Asai & S. Kuwada, Chem. pharm. Bull. 6, 523 (1958).
- [61] S. Kuwada, T. Masuda, T. Kishi & M. Asai, Chem. pharm. Bull. 6, 618 (1958).
- [62] M. Asai, S. Kuwada & K. Mizuno, Chem. pharm. Bull. 10, 243 (1962).
- [63] T.W. Goodwin & D.H. Treble, Biochem. J. 70, 14 P (1958).
- [64] Florkin & Stotz, Comprehensive Biochemistry 21, 11, Elsevier Publishing Company, Amsterdam 1970.

- [65] McGilvery, Biochemical Concepts, S. 414, W.B. Saunders Company, Philadelphia 1975.
- [66] R.L. Barnes, Nature 184, 1944 (1959).
- [67] R.M. Cresswell & H.C.S. Wood, J. chem. Soc. 1960, 4768.
- [68] W. Pfeleiderer & H. Walter, Liebigs Ann. Chem. 677, 113 (1964).
- [69] R. Kuhn, K. Reinemund, F. Weygand & R. Ströbele, Ber. deutsch. chem. Ges. 68, 1765 (1935).
- [70] M.L. Wolfrom, R.A. Gibbons & A.J. Huggard, J. Amer. chem. Soc. 79, 5043 (1957).
- [71] W. Rigby, J. chem. Soc. 1950, 1907.
- [72] W. Pfeleiderer, Chem. Ber. 90, 2588 (1956).

CURRICULUM VITAE

Am 2. März 1952 wurde ich, Hana Märki-Danzig, als tschechoslowakische Staatsbürgerin und Tochter des Alfred Danzig und der Renata geb. Reichmann in Zlaté Moravce bei Nitra in der Tschechoslowakei geboren. Nach neun Jahren Volksschule in Zlaté Moravce trat ich 1967 ins Gymnasium ein, das sich am selben Ort befand. Nach einem Jahr Gymnasium emigrierte ich im August 1968 in die Schweiz. Ich erhielt Asyl in der Schweiz, am 7. November 1973 die Niederlassung und im Juli 1976 durch meine Eheschliessung die schweizerische Staatsbürgerschaft. Im September 1968 trat ich in die zweite Klasse der Töchter Schule der Stadt Zürich, Gymnasium II, Abt. IV, ein, die ich 1971 mit der Matura Typ B abschloss. Seit Wintersemester 1971/72 studiere ich an der Universität Zürich Chemie. Im Frühjahr 1976 erlangte ich das Diplom in Organischer Chemie. Seither arbeite ich an meiner Dissertation. Sowohl Diplomarbeit als auch Dissertation standen unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. C.H. Eugster. Den experimentellen Teil meiner Doktorarbeit habe ich im März 1979 abgeschlossen.

Während meines Studiums besuchte ich Vorlesungen, Praktika und Uebungen bei folgenden Herren Professoren und Dozenten:

E. Batschelet, E. Brun, R. Buchecker, A. Dreiding, E. Dubler, C.H. Eugster, H. Fischer, R. Grauer, A. Habich, H.J. Hediger, H. Heimgartner, W. Heinzelmann, M. Hesse, L. Hoesch, H. Keller, W. Kündig, H. Labhart, H. Laves, K. deLorenzo, W. Ludwig, M. Müller-Vonmoos, H.R. Oswald, W. Petter, W. v. Philipsborn, P. Rüedi, H. Schmid, A. Stahel, H. Streuli, M. Textor, B. Thueler, M. Viscontini, G. Wagnière, F. Waldner, H. Werner, W.-D. Woggon, O. Woodtli.

